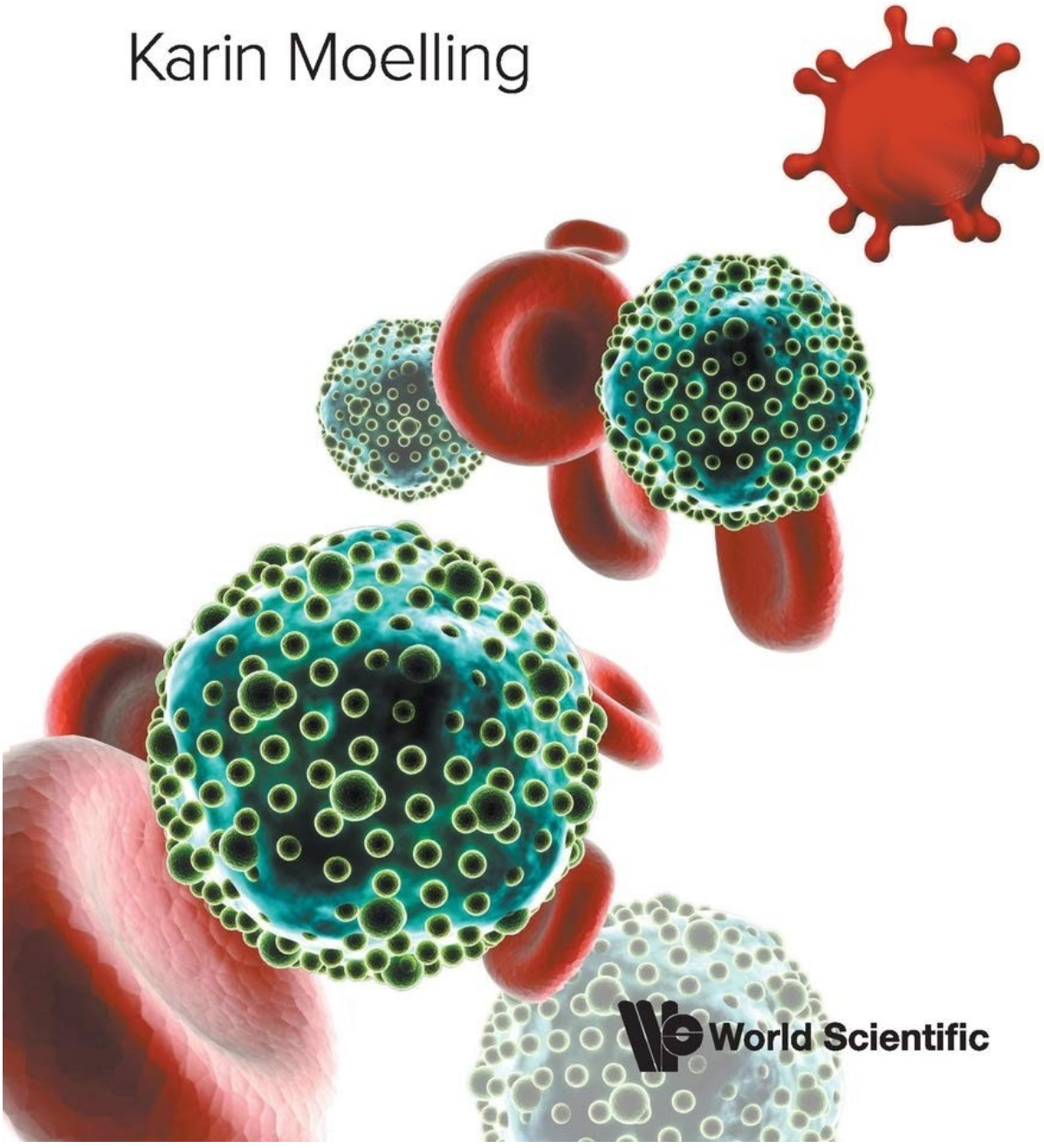
Bestseller

VIRUSES

More Friends Than Foes

Karin Moelling



World Scientific

Virușii
Mai mult prieteni decât dușmani

de

Karin Moellin

Universitatea din Zurich, Elveția & Institutul Max Planck pentru Genetică Moleculară, Berlin, Germania

World Scientific

CUPRINS

1. Viruşii - nu aşa cum vi i-aţi imaginat
- Viruşii - o poveste de succes
- După Big Bang
- În loc de Adam şi Eva
- La început au fost viruşii
- Privind în urmă
- Un marinar şi splicingul
- Viruşii - morţi sau vii?

2. Viruşii - cum ne îmbolnăvesc
- Viruşii au scris istorie
- HIV ca exemplu
- Pacientul din Berlin şi copilul din Mississippi - vindecarea HIV?
- Nu există vaccin împotriva HIV?
- „ADN-ul gol”
- Microbicidele ca „prezervative” pentru femei
- Conducerea HIV la „sinucidere”
- Originea şi viitorul HIV

3. Retroviruşii şi nemurirea

4. Transcriptaza inversă - o retrospectivă personală
- RNaza H - foarfecă moleculară
- RNaza H şi embrionii
- Telomeraza şi viaţa veşnică
- Viruşii ca nuclee celulare?
- Viruşi pentru detectarea viruşilor – PCR

4. Viruşii şi cancerul
- Diavolul tasmanian
- Oncogene retrovirale
- Saga sarcomului
- Oncogene virale fără virusuri - un paradox?
- Viruşii şi cancerul
- Fatalităţi ciudate
- Retroviruşii ca profesori ai cercetării cancerului
- Proteina Myc şi accidentele reactoarelor
- Supresorii tumorali şi accidentele urechilor
- Metastazele - şi cum învaţă celulele să alerge -Ome şi -Omics
- Cancerul - complet diferit?
- 23 şi eu - voi face cancer la sân?
- Viruşii şi cancerul de prostată?

5. Viruşii care nu ne îmbolnăvesc
- Un ocean plin de viruşi
- Fagele - viruşii bacteriilor
- O haină pentru pictor şi un jurnal pentru omul de ştiinţă
- Nu suntem singuri - suntem un superorganism
- Operaţia cezariană, laptele şi o genă „sushi
- Viruşi împotriva încălzirii globale şi a ouălor ouătoare

Un virus plin de gene de viespe - este acesta un virus?
Prionii pot trăi fără gene

6. Viruşii - „giganţi” ca celule
Viruşii gigantici ai algelor şi o interdicţie de înot în Marea Baltică
Viruşii amibelor pot gâdila
Sputnik- viruşi ai viruşilor
Viruşi de dimensiuni XXL - pandoravirusurile
Două recorduri mondiale Guinness: cei mai mari viruşi în cele mai mari celule
Pot viruşii să vadă?
Arheilor le place să fie fierbinţi şi sărate

7. Viruşii ca fosile
Viruşi moşteniţi
Phoenix din ADN
Cum supravieţuiesc koala viruşilor mortali
Paleovirologia
Viruşi schilodiţi
Cancer sau genii din viruşi?
Cine a construit virusurile ADN?
Porumbul „doamnei Mendel”
Jucării otrăvitoare şi epigenetică la şoarecii Agouti
Frumoasa adormită, peştii antici, ornitorincul şi coiotul
Un gard cu spaţii goale ENCODE pentru înţelegerea „junk-DNA”

8. Viruşii - cei mai vechi strămoşi ai noştri?
La început a fost ARN-ul
Prima găină sau primul ou? - Nici una, nici alta!
Viroizii - primii viruşi?
Viroidele - analfabeţi atotcuprinzători
Cercuri de ARN
Ribozomii sunt ribozomi - viruşii fac proteine!
Frunzele de trifoi
O proteină ca chaperon
De la cartof la ficat
Viruşii mozaicului tutunului
Viruşii din „sosul chili” şi din mărul meu
Tulipomania: prima criză financiară provocată de un virus
Bancnota de 500 de mărci germane cu MS Merian

9. Viruşii şi apărarea antivirală
Apărare rapidă şi lentă
Fără culoare prin gene silenţioase
Sistemul imunitar ereditar la bacterii - şi cum rămâne cu noi?
Terapii care imită apărarea antivirală - CRISPR/Cas9
De la crabi potcoavă şi viermi pentru imunizare
Viruşii şi psihicul

10. Viruşi şi fagi pentru supravieţuire?
Fagii uitaţi
Germeni de fasole otrăviţi de fagi

11. Care este mai murdar, frigiderul sau toaleta?
„Cazul Zurich” privind transferul fecal
Cum să luptăm împotriva obezităţii
Studiul privind foametea olandeză
Viermii Elba externalizează digestia
Ecosfera într-o bilă de sticlă

11. Viruşi pentru terapia genică
Viruşi împotriva viruşilor
O uşă cu scurgeri, cai Lipizzan, şeici - şi publică sau pieri
„Vaccinarea ţânţarilor” împotriva viruşilor
Viruşi pentru terapia plantelor
Pot viruşii să salveze castanii şi bananele?
Ciupercile fac sex în locul viruşilor
Celulele stem - aproape celule tumorale?
Noul cap al Hidrei

12. Viruşii şi viitorul
Biologia sintetică - câine sau pisică ieşită din eprubetă?
Care a fost primul - virusul sau celula?
Progresori rapizi şi lenţi Monştri în eprubetă
Noroc până acum - dar cum rămâne cu sfârşitul lumii?
Viruşii „sociali”
O nouă „genetică” fantastică cu hormoni sexuali
Viruşi pentru prezicerea viitorului?

Prefață

Stăm pe umerii giganților. Stând alături de giganți, de-a lungul deceniilor am făcut cunoștință cu unii dintre cei mai proeminenți cercetători ai generației mele - ascultându-i și privindu-i, de cele mai multe ori cu mare admirație și respect, iar uneori contribuind și eu. Pe această bază, dar și într-o oarecare măsură în opoziție cu ceea ce am văzut, această carte a fost inițiată ca o „carte anti-virus”. Virușii, așa cum îi întâlnim de obicei, sunt creaturi periculoase, terifiante; sunt distructivi, amenințători și de-a dreptul neplăcuți. Cu toate acestea, ei contribuie la existența noastră, la mediul nostru, la dezvoltarea vieții și la evoluție. Ei fac parte din genele noastre! Această latură pozitivă a virușilor și microorganismelor este aproape întotdeauna ignorată, iar ei merită mai mult credit pentru aceasta decât li se acordă în general. Aici cititorul va întâlni această altă lume a virușilor și sper că călătoria noastră prin ea va fi distractivă, nu sinistră, nu prea științifică, întotdeauna puțin relaxantă, uneori provocatoare, actualizată din punct de vedere științific și uneori puțin futuristă.

Fiecare cititor va avea ocazia să fie surprins de viruși: unde sunt activi pe planeta noastră, în oceane, în grădinile și copacii noștri, în interiorul și în exteriorul corpului nostru - inclusiv în intestine, creier sau canalul de naștere. Virușii ne influențează bunăstarea, sufletul, frica sau curajul, depresia, libertatea și luarea deciziilor - și pentru a da un exemplu: chiar și obezitatea. Imaginați-vă, virușii asemănători HIV au făcut ca ouatul să devină inutil pentru noi, oamenii, de milioane de ani. Sper că cititorii vor fi fascinați de mai multe ori - așa cum, într-adevăr, am fost și eu în timpul scrierii.

Am studiat și am predat timp de peste 40 de ani despre virușii care provoacă boli - care nu sunt subiectul principal aici - deci, știu despre HIV/SIDA - dar cred că majoritatea bolilor virale sunt provocate de om din cauza sărăciei, a lipsei de igienă, a mobilității sau a obiceiurilor.

Cititorul va porni într-o călătorie în cea mai intimă parte a ceea ce alcătuiește lumea noastră. Astăzi, *Dr. Faust* al lui Goethe sau al lui Marlowe ar fi, foarte probabil, un biolog molecular - poate chiar un virusolog, deoarece „Viro-sfera” include întreaga lume, chiar universul! Poate că Goethe ar fi onorat virușii dacă ar fi știut despre existența și importanța lor.

Într-adevăr, „Homunculus”, proiectat de Goethe, îl plasează pe Dr. Faustus aproape de lumea noastră moleculară. Cum a început viața? Și cum se sfârșește? Cum apar progresul și inovația - desigur, prin viruși și faimoasa lor „neglijență”. Și „lemurii gălăgioși, care cad cu capul peste coadă în morminte” pot fi găsiți aici, chiar dacă nu sunt chiar ca cei din „Faust” al lui Goethe - de fapt, sunt creaturi foarte ciudate, care de 13 milioane de ani poartă viruși asemănători HIV!

Cartea nu trebuie citită de la început până la sfârșit, ci mai degrabă alegând, selectând, sărind, întorcând paginile și sărind peste pasaje dacă acestea par prea dificile sau conțin prea multe detalii științifice. Un glosar și o listă de referințe sunt oferite pentru informații suplimentare. Cu toate acestea, finalul, ultimul capitol, este destinat tuturor, deoarece condensează și rezumă multe detalii, cu vocile combinate într-un *tutti* final ca la sfârșitul unei fugi a eroului meu, Johann Sebastian Bach.

Îmi asum riscul de a reflecta asupra modului în care progresează știința și asupra forțelor care conduc activitățile de zi cu zi ale cercetătorilor științifici. Mă consider un martor, un spectator, care poate descrie unele dintre propriile mele experiențe - deși cu ideea și speranța că acestea vor fi considerate reprezentative și generale, și nu vor părea prea personale. În unele momente, comentariile mele vor fi destul de critice, dar scriu fără amărăciune sau resentimente - mai degrabă, ușor amuzat de ceea ce s-a întâmplat, de ceea ce am ratat și de ceea ce astăzi încă mă mai face să merg mai departe. Așadar, unele părți sunt asemănătoare unei povestiri polițiste, pentru divertisment. Alte părți sunt mai degrabă filosofice, așa că tu, dragă cititorule, poți alege.

Un coleg a caracterizat versiunea germană a acestei cărți ca fiind trei volume într-unul singur: o poveste polițistă despre oamenii de știință, o prezentare populară a științei care acoperă mai multe decenii și o lucrare filosofică. Nu sunt filosof, dar știința ne face să ne întrebăm și să reflectăm. Un alt comentariu potrivit vine de la scriitorul și producătorul de film german Alexander Kluge în recenta sa „Cronică”, în care mă descrie ca un povestitor de „Povești de noapte bună”, la

fel ca cele pe care îi plăcea să le asculte de la dădaca sa când avea 5 ani. Există două opțiuni, deci, fie adormiți, fie găsiți poveștile suficient de amuzante și simple pentru a le asculta. Scriu nu numai pentru colegii universitari din domenii similare sau conexe, ci și, și poate în primul rând, pentru studenți și pentru profani de toate felurile - cititori care pot ignora pur și simplu unele dintre observațiile științifice mai specializate. Citiți despre operațiile cezariene sau foametea olandeză și consecințele lor asupra nou-născuților. Știați că virușii pot „vedea”? Sau uitați-vă la capitolul despre lalele, prima criză financiară din istorie - cu viruși drept cauză! Astfel, economiștii pot afla și câteva fapte surprinzătoare.

Cui trebuie să mulțumesc? Tuturor celor pe care i-am întâlnit - nu numai giganților, pentru că fiecare ființă umană este o sursă de inspirație și are ceva de transmis celorlalți. Întotdeauna mi-a plăcut să îi ascult pe „cei mici”.

Atât de mulți oameni și organizații au contribuit atât de mult la viața mea; aceste contribuții sunt atât de împletite încât nu mai pot fi separate. Mulți m-au sprijinit: părinții mei, școala, universitățile, organizațiile de finanțare, bursele, organizațiile de cercetare, precum și societatea în ansamblu. Cu toții m-au însoțit de-a lungul drumului și mi-au permis să-mi găsesc calea. Nu în ultimul rând, ei mi-au finanțat cercetarea, cel mai costisitor hobby de pe pământ: virusurile și cancerul.

De-a lungul drumului, a trebuit întotdeauna să interacționez cu tineri, pe mulți dintre care a fost responsabilitatea mea să îi motivez și să îi sprijin - lucru pe care l-am făcut nu doar ca pe o datorie, ci și cu mare plăcere și încântare, uneori cu succes. Ei m-au menținut tânăr și flexibil. Și, nu în ultimul rând: dușmanii puternici m-au făcut puternic. Această ultimă provocare a fost mai greu de înfruntat decât pare și habar nu aveam cum să îi fac față - așa că am urmat sfatul unui coleg: „Ascunde-te într-un canal, închide capacul și încearcă să produci lucrări bune - acesta va fi salvarea ta!”

Fundația *Studienstiftung* a dat dovadă de o mare generozitate și răbdare în sprijinirea tranziției mele neașteptate de la fizică la biologia moleculară la Berkeley, SUA, într-un moment în care revoltele studențești făceau ravagii în campus; de fapt, *Studienstiftung* a făcut această tranziție posibilă. Decizia de a plonja în necunoscut, în domeniul biologiei moleculare, într-un moment în care nimeni nu putea să-mi explice ce este biologia moleculară, a fost una dintre cele mai dificile decizii pe care a trebuit să le iau vreodată. Apoi am devenit cercetător și om de știință împotriva sfaturilor tuturor. Institutul Max Planck de Genetică Moleculară din Berlin m-a sprijinit, astfel încât am putut efectua cercetări independente timp de douăzeci de ani, perioadă în care am avut norocul de a obține mai multe rezultate noi privind virusurile și cancerul, care m-au purtat în viitor, chiar dacă acest lucru s-a dovedit a fi mult mai dificil decât anticipasem. Toate acestea s-au întâmplat într-o perioadă în care femeile erau la fel de rare în Societatea Max Planck „ca și în Orchestra Filarmonică din Berlin sub conducerea lui Herbert von Karajan, sau în ierarhia Bisericii Catolice”. La acea vreme aveau câte una: Sabine Meyer, pe atunci foarte tânără clarinetistă, și Sfânta Maria, mama lui Iisus - după cum a subliniat Heinz Schuster, pe atunci director al Institutului Max Planck, într-o conferință publică. Am fost norocoasă și am profitat de sprijinul său.

Sunt foarte recunoscătoare Universității din Zurich pentru că mi-a permis să-mi desfășor activitatea de cercetare timp de mulți ani și pentru că a luat decizia curajoasă de a mă numi, ca medic fără studii medicale, la Facultatea de Medicină - fiind singura femeie director în era „pre-gender”. „Ține-ți gura în public” a fost un sfat serios din partea unui prieten, care cunoștea scena și pe colegii săi - deci, evident, nu toată lumea era la fel de convinsă. Ar fi trebuit să fiu mai ascultătoare.

Îi sunt recunoscătoare lui Manfred Eigen, de la Institutul Max Planck pentru Chimie Biofizică din Gottingen, pentru numeroasele sale invitații generoase în lumea ARN a renumitelor sale seminarii anuale de iarnă din Klosters, Elveția, unde au fost inițiate unele dintre ideile discutate în această carte. Am fost admisă în calitate de *retrovirolog* - deoarece Eigen considera aceste virusuri un model extraordinar pentru evoluție, după cum va vedea cititorul. Am admirat cunoștințele vaste și viziunile lui Eigen - și modul în care calculele sale adesea simple despre cinetica reacțiilor, numere, parametri de interacțiune i-au făcut pe unii vorbitori să se piardă.

Mulțumesc, de asemenea, Institutelor pentru Studii Avansate de la Berlin și Princeton pentru invitațiile și sprijinul lor, pentru atmosfera stimulativă în care ideile au putut fi create și dezvoltate într-un mediu de discuții și pentru invitația fantastică de a pătrunde în lumi de gândire noi și foarte îndepărtate. Tânjesc după utilizarea tablei negre și a cretei, deoarece acestea evocă amintiri ale celor mai vii și spontane discuții de la Princeton. John Hopfield sau Freeman Dyson la tablă vor fi întotdeauna de neuitat pentru mine. Gândindu-se la rețele neuronale sau la mecanica cuantică, ei puneau întrebări complet diferite de cele pe care le pun inițiații spălați pe creier. Dyson m-a avertizat cu privire la scrierea unei cărți despre viruși: „*Oamenii vor să știe despre oameni, oamenii nu vor să știe despre genetică!*” Am încercat să urmez sfatul său în timp ce scriam această carte.

Mulțumesc în mod special foștilor mei studenți, colaboratori și coautori la atât de multe lucrări, la ale căror lucrări fac referire în diferite capitole și care m-au ținut tânăr și energic. Majoritatea dintre ei erau atât de entuziasmați de știință încât uitau adesea de planificarea carierei și de a se gândi la viitorul lor. Am petrecut multe ore plăcute și o parte semnificativă a vieții mele împreună.

Îi mulțumesc în mod special lui Felix Broecker pentru lectura critică a versiunilor germană și engleză ale cărții din punctul de vedere al unui tânăr om de știință și pentru verificarea numeroaselor actualizări, numere, fapte, credite, nume și trimiteri la alte publicații. Îi sunt recunoscător lui Ulrike Kahle-Steinweh pentru comentariile sale din punctul de vedere al unui profan și pentru încurajările sale neîncetate. De asemenea, Alfred Pingoud, care, din păcate, a decedat deja, merită multe mulțumiri, nu în ultimul rând pentru că nu a fost întotdeauna de aceeași părere cu mine. Mulțumirile mele se îndreaptă, de asemenea, către Stefan Bollmann - care a fost editorul acestei cărți la editura germană C.H. Beck și care a suferit din cauza stilului meu, dar l-a tolerat - și către Paul Woolley, care a editat prima versiune a manuscrisului meu în limba engleză.

A trebuit să experimentez limitele cercetării cancerului de două ori într-un mod trist. Dedic această carte memoriei lui Heinz Schuster, unul dintre fondatorii Institutului Max Planck pentru Genetică Moleculară din Berlin. A fost un entuziast și un susținător al muncii mele, precum și un prieten apropiat și generos. De asemenea, îi dedic această carte lui Paul Gredinger, din Zurich - un neștiințific, care regreta că știe atât de puține despre știință, pe care le va studia în „viața următoare”. Era cunoscut ca un operator inovator și creativ al unui *Art and Think Tank*. Mi-a dat un sfat de neuitat: Dacă cineva îți fură rezultatele, este o onoare pentru tine. Și cel mai important: Nu participa la reuniunile colegilor tăi, ci la cele ale non-colegilor tăi; acest lucru este mult mai inovator. A avut dreptate. Amândoi mi-au permis să îi însoțesc, să împărtășesc idei și gânduri cu ei. Ei m-au inspirat, mi-au făcut viața fericită - și adesea aveau mai multă încredere în mine decât aveam eu însumi.

De două ori a trebuit să învăț să le spun la revedere pentru totdeauna - despărțiri pe care nu le pot uita. Am încercat să o fac scriind această carte.

Berlin/Zurich, 2016
Karin Moelling

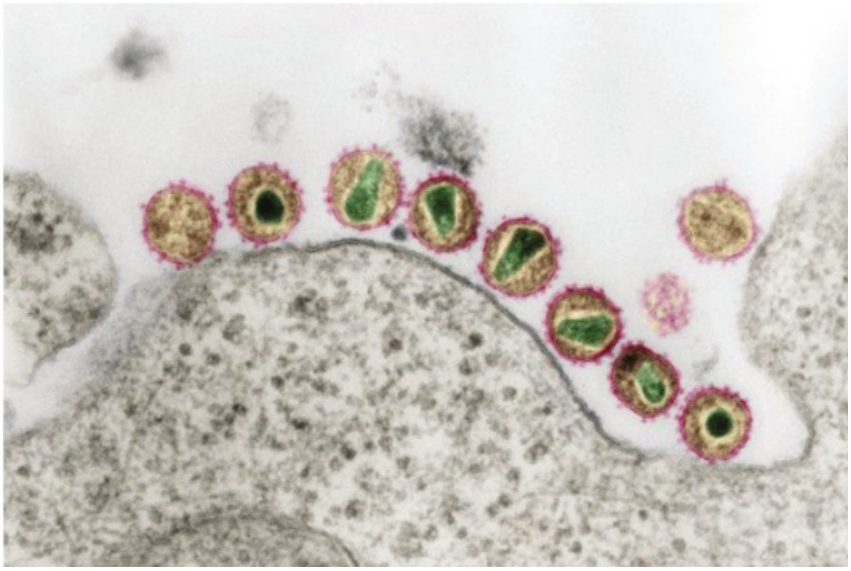
1. Virușii - nu așa cum vi i-ați imaginat

Virușii - o poveste de succes

Cuvântul „virus” provoacă adesea dezgust: „Ugh, ține asta departe de aici” - sau «Ai grijă, sunt contagioase, te îmbolnăvesc»! Iată însă o carte care vorbește despre contrariul: Virușii sunt mai buni decât reputația lor. Mult mai buni. Acesta este un revers surprinzător al virușilor, care va fi subiectul acestei cărți. Virușii ca prieteni, nu ca dușmani!

Totul este nou în virologie. Fără să fie observată, a avut loc o schimbare de paradigmă: accentul nu se mai pune pe boli, ci mai degrabă pe latura pozitivă a virușilor: virușii ca motoare ale evoluției, virușii care conduc la inovare, virușii la originea vieții - sau cel puțin prezența lor de la început. De-a lungul evoluției, virușii au fost „culturiștii” noștri sau modulatorii de gene. Ce este un virus? De unde provin virușii? Sunt ei vii sau nu? De ce și când ne îmbolnăvesc? Dacă dumneavoastră, cititorul, doriți să continuați să înotați în mare - dacă păpușile pentru bebeluși din Orientul Îndepărtat pot provoca cancer și ar trebui evitate - dacă ar trebui să nu vă mai bucurați de salată din cauza numeroșilor viruși vegetali - acestea sunt întrebări asupra cărora puteți decide singur după ce ați citit această carte.

În timp ce o citiți, veți afla câte ceva despre viață - cele mai ascunse părți ale celulelor și genelor dumneavoastră; veți afla cum contribuie virușii la adaptarea noastră la condițiile de mediu; vă veți confrunta cu întrebarea dacă aceștia pot contribui la liberul arbitru uman; veți descoperi în ce măsură suntem înrudiți cu bacteriile și viermii și cum sexul poate fi înlocuit de viruși; veți afla că virușii au „inventat” toate sistemele imunitare și au furnizat celulelor mecanisme de apărare antivirale. Acest lucru este mult mai ușor de înțeles decât v-ați putea aștepta și reflectă propria mea gândire. Ce rol joacă virușii în dezvoltarea cancerului și în terapia genică? Genele „săritoare”, care sunt „viruși blocați”, creează oare genii? Știți că virușii pot „vedea”? Aproape că da, culoarea albastră! Veți citi despre eforturile de salvare a castanilor, despre originea dungilor de pe lalele și a modelelor albe de pe petuniile albastre de balcon (viruși, desigur) și despre modul în care virușii au provocat prima criză financiară, cunoscută sub numele de „*tulipomania*”. În cele din urmă, o treime din omenire ar putea dori să știe cum să controleze masa corporală sau obezitatea. (Prin viruși? Da, într-adevăr.) Virușii au contribuit și continuă să contribuie la toate acestea. Și acum, să începem prin a citi despre povestea de succes a virușilor.



Particule HIV aliniate la suprafața celulei, imagine microscopică electronică.

În 2009, anul bicentenarului Darwin, am luat prânzul cu colegi de la Institutul pentru Studii Avansate din Berlin și, în timpul conversației, i-am întrebat cum cred ei că a început viața. Printre ei se numărau filosofi, istorici, sociologi și avocați - și ce au presupus ei? Big Bang-ul? Cu siguranță nu Adam și Eva, au spus ei - disprețuind creaționismul. Dar răspunsul lor general a fost unul de perplexitate și neputință. Dacă puneți această întrebare, a concluzionat unul dintre bursieri, atunci răspunsul trebuie să aibă legătură cu virușii. Da, este exact ceea ce cred și eu: Virușii au fost acolo de la început, sau cel puțin au contribuit de foarte devreme.

Istoria medicinei a condus la o imagine unilaterală a virușilor, descriindu-i ca fiind cauza diferitelor boli. Acesta este, într-adevăr, modul în care am ajuns să știm despre ei. Majoritatea bolilor virale sunt incurabile - nu există tratamente împotriva lor - ceea ce contribuie la reputația proastă a virușilor. Timp de secole, oamenii au fost neputincioși în fața infecțiilor virale. Poliomielita, rujeola, pojarul și gripa au distrus culturi, au decis rezultatul războaielor, au ruinat orașe și au depopulat peisaje întregi. Infecțiile virale nu puteau fi deosebite de cele bacteriene, de fapt, acest lucru nici nu este necesar, deoarece, conform celor mai recente rezultate ale cercetărilor, bacteriile *pestis* au devenit la fel de mortale prin modificarea lor prin intermediul unui fag, un virus care locuiește în bacterii.

Există „coloane ale ciumei” comemorative în multe orașe - cum ar fi Viena, unde Pestsaule este astăzi un punct de întâlnire popular. Biserica Santa Maria della Salute din Veneția ne amintește de Moartea Neagră din 1347, de teama de infecții și de recunoștința supraviețuitorilor, chiar și astăzi. În fiecare an, Veneția comemorează ciuma prin parade colorate de gondole, chiar dacă orașul nu și-a revenit niciodată complet după numărul mare de morți. *Coquistadores* spanioli își datorează victoria asupra maiașilor din Mexic în principal rujeolei, care nu era cunoscută acolo și, prin urmare, era mortală pentru populația locală. Maiașii s-au răzbunat provocând sifilis cuceritorilor lor și, prin urmare, Europei. Rezultatul Primului Război Mondial a fost decis, cel puțin în parte, de epidemia de gripă, care a putut provoca până la 100 de milioane de decese. Din 1981, HIV/SIDA a ucis aproximativ 37 de milioane de oameni în întreaga lume, iar în fiecare an alte două milioane sunt infectate.

Abia în ultimii 100 de ani am reușit să deosebim virușii de bacterii. Cel mai simplu mod este după mărimea lor: în majoritatea cazurilor, virușii sunt mai mici decât bacteriile - vom vedea excepțiile - și, cel puțin în prezent, depind de celule pentru replicarea lor, inclusiv de celulele mamiferelor, plantelor sau bacteriilor. Bacteriile, spre deosebire de virusuri, se pot replica autonom. Virușii de astăzi nu pot face acest lucru, dar este foarte posibil să fi fost capabili să facă acest lucru într-un trecut îndepărtat. Atât bacteriile, cât și virușii pot provoca boli. Antibioticele distrug bacteriile, dar nu și virușii. Cu toate acestea, dacă medicii prescriu antibiotice pentru infecțiile virale, atunci acest lucru este menit să protejeze pacienții împotriva unei posibile suprainfecții bacteriene. Există foarte multe cărți despre viruși care îi descriu ca fiind cauze ale bolilor. Timp de mulți ani am predat exact acest lucru studenților la medicină de la universitățile din Berlin și Zurich. Dar nu despre asta scriu aici.

Nu, opusul necesită atenție. Datorită noilor tehnologii, virusologia s-a schimbat complet de la începutul acestui secol. Dacă odată virusurile erau considerate dușmani ai oamenilor și animalelor, chiar ai tuturor formelor de viață, acum recunoaștem că virusurile au contribuit la începutul vieții și au contribuit pozitiv la dezvoltarea acesteia de atunci și până în prezent. În ultimii aproximativ zece ani, percepția noastră asupra tuturor microbilor - atât viruși, cât și bacterii - s-a schimbat complet. Noi metode, noi abordări experimentale și noi metode de detecție sensibile au arătat că virușii nu sunt în niciun caz doar germeni patogeni. Nu ar trebui să fim surprinși că virușii nu se răspândesc mai repede, ducând la mult mai multe infecții, în condițiile în care există trei miliarde de zboruri în lume în fiecare an, care transportă aproximativ 300 de miliarde de pasageri - în ciuda faptului că aerul din avioane este doar circulat și nu purificat prin filtre sterilizante costisitoare. Majoritatea virușilor și a altor microorganisme sunt inofensive pentru gazdele lor - acesta este un lucru de reținut.

Virușii sunt peste tot. Acestea sunt cele mai vechi entități biologice de pe planeta noastră, după cum se va arăta mai târziu. Și, de asemenea, sunt de departe cele mai abundente. Ne-am născut

ca oameni într-o lume care exista de miliarde de ani înaintea noastră. Noi suntem întârziaţi şi populăm planeta noastră de mai puţin de câteva sute de mii de ani. Cei care nu au putut face faţă microorganismelor preexistente au murit, iar ceilalţi au stabilit o coexistenţă cu acestea. Nu ştim câte populaţii au dispărut din cauza bolilor - a fost omul de Neandertal una dintre ele? Este important de reţinut: bolile apar atunci când un echilibru este perturbat şi se produc modificări ale condiţiilor de mediu prin igienă precară, călătorii, oraşe suprapopulate, dispariţia pădurilor, a rezervoarelor de apă, poluare sau contact apropiat cu alte specii purtătoare de virusuri necunoscute nouă (zoonoză). Microbii necunoscuţi unui organism pot provoca boli fără a-i afecta pe cei care sunt obişnuiţi cu ei. Majoritatea bolilor noastre umane sunt autoprovocate - o afirmaţie puternică! Un exemplu simplu este cel al „răcelii" proverbiale - ceea ce înseamnă o schimbare de temperatură care permite unor viruşi să se reproducă mai bine decât înainte, ducând la boli precum rinita sau gripa. „A răci" - rezumă virologia pe scurt! În mod normal, suntem în echilibru cu mediul înconjurător, iar bolile apar doar dacă echilibrul scapă de sub control sau dacă condiţiile sunt necunoscute. Acest lucru oferă virusilor posibilitatea de a se reproduce şi de a ne îmbolnăvi.

Noul mileniu a început cu o surpriză. Două publicaţii ştiinţifice ne-au schimbat viziunea asupra lumii. Una a arătat că viruşii alcătuiesc jumătate din materialul nostru genetic, genomul nostru, toate genele noastre, iar cealaltă ne-a dezvăluit dominaţia microorganismelor în corpul nostru şi în jurul nostru. Ambele publicaţii se bazau pe o nouă tehnologie care a devenit disponibilă spre sfârşitul secolului trecut: secvenţierea, determinarea secvenţelor genomurilor mari, cum ar fi genomul uman. Prima dintre cele două lucrări, din 2001, descria determinarea genelor noastre, formate din 3,2 miliarde de elemente de construcţie, nucleotidele. Acesta a fost rezultatul unui efort gigantic, cu o contribuţie de mai multe milioane de dolari. Nimeni nu şi-ar fi putut imagina din ce este alcătuit predominant genomul nostru. Răspunsul este: virusi. Aproximativ jumătate din genomul uman este format din viruşi - sau cel puţin din secvenţe legate de viruşi, viruşi trunchiaţi sau fosile virale care au locuit în genomul nostru timp de milioane de ani. Alte organisme pot găzdui chiar secvenţe virale care constituie până la 85% din genele lor. Unde este limita? 100% - ? Vom discuta despre aceasta. Mai surprinzător este faptul că aceste elemente virale se pot mişca, pot sări, genomurile noastre se schimbă în mod constant. Şi încă o surpriză este faptul că toate genomurile tuturor speciilor de pe planeta noastră sunt legate între ele. Cu toţii suntem rude la nivel genetic: muştele şi alte insecte, algele sau planctonul, viermii, chiar şi drojdia de panificaţie, bacteriile, plantele, ciupercile, până la oameni - şi virusii oricum - pentru că ei au furnizat multe dintre gene.

Consorţiul care şi-a propus să compare mai multe genomuri în cadrul Proiectului Genomului Uman (HGP) a prezentat acest rezultat, într-una dintre cele mai lungi publicaţii pe care le-am văzut vreodată în revista *Nature*.

Recent, noi metode au permis o estimare a numărului de viruşi de pe planeta noastră. Pe Pământ există mai mulţi viruşi decât stele pe cer: 10^{33} de viruşi, 10^{31} de bacterii, „doar" 10^{25} de stele şi, în curând, aproximativ 10^{10} oameni. Noi suntem invadatorii într-o lume a microorganismelor, şi nu invers. Un număr gigantic de microorganisme, bacterii, arhaea, viruşi şi ciuperci populează corpul nostru şi domină în mediul nostru. Bacteriile şi virusii sunt prezenţi în cantităţi de ordinul kilogramelor în intestinele noastre - fără a provoca însă boli. Dimpotrivă, ele ne ajută să digerăm diverşi nutrienţi - chiar esenţiali - pe care altfel nu i-am putea consuma. De asemenea, ele ne acoperă pielea, gura, vaginul, degetele de la picioare, unghiile şi canalul de naştere, toate cu compoziţii bacteriene şi virale specifice locului. Această observaţie foarte surprinzătoare a prezenţei omniprezente a microoganismelor este rezultatul unei recente analize pe scară largă, secvenţierea microbiomului uman, în cadrul Proiectului Microbiomului Uman (HMP). Într-un fel, acesta este o continuare a Proiectului Genomului Uman (HGP). „Microbiom" este un cuvânt nou care înseamnă secvenţa tuturor microorganismelor combinate, fără cunoaşterea celor individuale prezente într-un anumit eşantion. Principiul este „a le face pe toate". Această a doua lucrare epocală a fost publicată în 2010 şi, de atunci, microbiomul şi rolul său în intestinul uman, în nutriţie, în sănătate şi boală, inclusiv probleme urgente precum obezitatea şi chiar autismul şi, în mod surprinzător, depresia şi chiar anxietatea, au atras multă atenţie. O întrebare conexă este cea legată de alimentaţia noastră -

ce este o alimentație sănătoasă? Este la fel pentru japonezi ca și pentru italieni? Nici măcar nu știm! Și aici intervin virușii: Virușii există în număr astronomic și în oceane, fiecare salată este plină de viruși - și aceștia nu pot fi eliminați prin spălare, deoarece se află în interiorul celulelor; totuși, sunt inofensivi. Virușii sunt peste tot, la fel și bacteriile și, probabil, toate celelalte microorganisme - și asta nu în contextul bolilor. Toate aceste cunoștințe sunt noi; ele datează de la începutul secolului nostru și le datorăm noii tehnologii, secvențierea genelor - care a devenit de milioane de ori mai ieftină și mai rapidă în ultimii zece ani.

Oamenii sunt un superorganism, un ecosistem complet. Oamenii sănătoși cuprind 10^{13} celule care sunt autentic umane, „sinele" nostru și, în plus, găzduim aproximativ 10^{14} bacterii și, în plus, de cel puțin zece până la o sută de ori mai mulți viruși. Genomul nostru, format din aproximativ 20 000-22 000 de gene, este completat de mai mult de câteva milioane de gene, de 350 de ori mai multe decât numărul celulelor noastre autentic umane. Microorganismele locuiesc în intestinele noastre și ne populează pielea - ne putem întreba dacă acestea ar trebui eliminate printr-un duș zilnic - eu aș spune că nu! Ele sunt utile și ne protejează de cele străine.

Secvențe virale și bacteriene au intrat chiar în genomul nostru. Pare de necrezut. Cât a mai rămas din noi ca oameni? Provocarea de a explica acest lucru cât mai multor oameni a fost motivul pentru care am scris această carte.

Bacteriile au fost numite al doilea genom al nostru. Acest lucru este general acceptat. Va trebui să adăugăm virușii ca al treilea genom al nostru. Și mai există și milioane de ciuperci. Sunt ele al patrulea genom al nostru? Dar *archaea*? Da, cu siguranță contribuie și ele.

Acest ecosistem nu este caracterizat de un război constant - nu de ucidere, ci mai degrabă de un joc de ping-pong, de o coexistență echilibrată, de co-evoluție. Vocabularul „război" trebuie să fie abandonat. Lucrurile devin periculoase doar atunci când distrugem echilibrul. În majoritatea cazurilor, oamenii provoacă ei înșiși bolile. Virușii și bacteriile se comportă oportunist. Ei profită de situații neobișnuite, de slăbiciunile gazdelor lor. Eu nu aș merge mai departe de această descriere; vocabularul „război" nu îl accept.

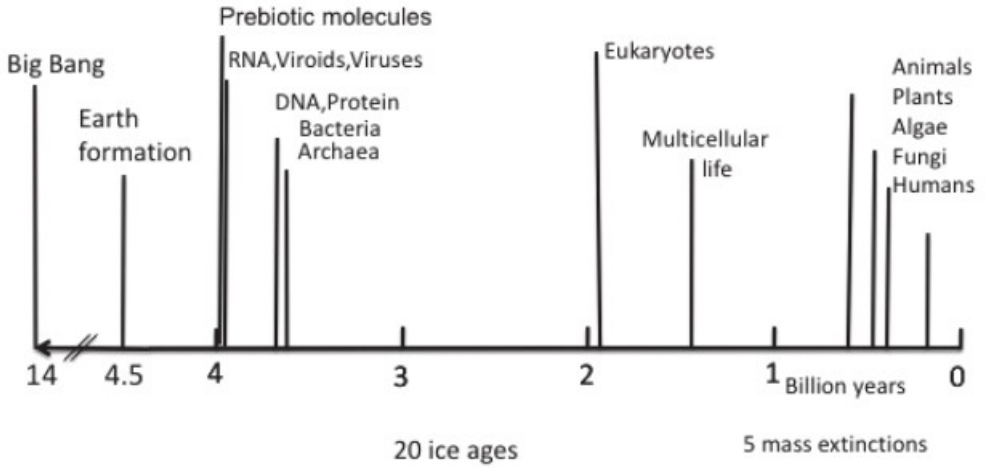
O altă noutate a fost descoperirea unor virusuri gigantice, **mimi-virușii**, cei mai mari viruși întâlniți vreodată, mai mari decât multe bacterii. Acești viruși pot găzdui chiar și viruși mai mici. De asemenea, au unele proprietăți prin care seamănă cu bacteriile. Ele nu au fost detectate „imitând" bacteriile, ceea ce le-a dat numele de „mimi-virusuri". Astfel, granița dintre viruși și celule nu este una netă, iar lumea virușilor și a bacteriilor este un continuum. Toate definițiile cunoscute ale virușilor au devenit caduce. Cum să definim un virus? Cum rămâne cu tranziția dintre materia vie și cea nevie?

După Big Bang

Big Bang-ul a avut loc acum aproape 14 miliarde de ani. A fost începutul universului nostru - nu și al vieții! De atunci, universul a continuat să se extindă. Acum 4,5 miliarde de ani a apărut soarele și sistemul nostru solar a luat naștere prin intermediul asteroizilor, rocile care populau universul. Rocile și gazele s-au adunat sub forța gravitației, iar presiunea acesteia le-a topit pentru a forma elemente mai grele. Acestea s-au ciocnit și s-au aglomerat, formând planetele care se învârt în jurul soarelui. Astăzi, majoritatea asteroizilor mici nu supraviețuiesc trecerii prin atmosfera noastră și pot fi văzuți noaptea ca stele căzătoare, strălucind și murind. Doar cei mai mari au reușit să ajungă până la suprafața planetei noastre. Acei asteroizi care au ajuns pe Pământ au livrat unele dintre elementele cunoscute de noi din Tabelul Periodic al Elementelor. Suntem făcuți din „praf de stele", ceea ce sună destul de poetic.

Oxigenul și fierul nu au putut fi sintetizate atât de ușor, doar prin coliziune; ele au avut nevoie de o sursă de energie din exploziile supernovelor. Întotdeauna mă întreb cum a ajuns fierul în centrul hemoglobinei noastre - „elixirul vieții"! Ca o adevărată curiozitate, păstrez o bucată dintr-un meteorit de fier în Wunderkammer-ul meu (o colecție de curiozități care include fosile precum amoniți, scoici, arbori pietrificați, chihlimbar și corali; din păcate, nu pot colecționa viruși fosili, deși mi-ar plăcea să o fac). Meteoritul de fier a lovit odată Campo del Cielo (ce nume semnificativ!)

din nordul Venezuelei. Bucata de fier este întunecată și foarte grea, așa că am încredere că este un meteorit (materialul de pe Pământ care provine de la asteroizi) și că are într-adevăr 500 de milioane de ani vechime; cu toate acestea, nu pot dovedi acest lucru. Unii oameni cred că este magic și poate vindeca boli - eu nu cred asta! Recent am adăugat o cutie de Coca Cola la colecția mea de curiozități - de ce? Veți vedea.



Linia cronologică a pământului.

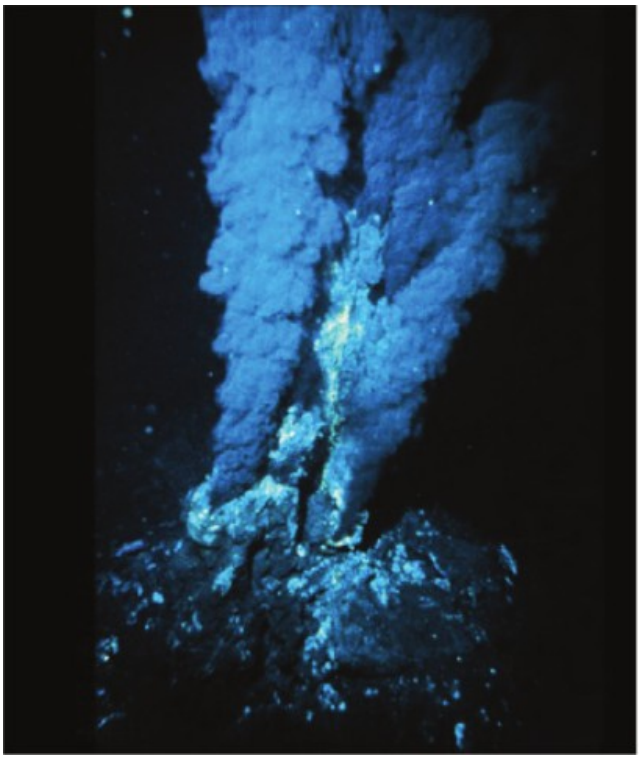
Învățăm numele planetelor la școală: Mercur, Venus, Pământ și Marte. Marele Jupiter este mai departe, iar gravitația sa a împiedicat aglomerarea asteroizilor, astfel încât mii de asteroizi reziduali au format Centura de asteroizi. Această centură este numită „zonă locuibilă”, deoarece unii oameni de știință se așteaptă ca acolo să existe viață extraterestră. Un astfel de asteroid este deosebit de interesant, Ceres, deoarece în 2014 agențiile spațiale au detectat nori pe el, sugerând că este format din apă în interior înconjurată de gheață. Apa este o componentă esențială a vieții așa cum o cunoaștem astăzi. Așadar, ar putea exista viață pe Ceres? Dacă am putea afla, am afla mai multe despre propriile noastre începuturi. ARN, viruși, bacterii - asta mă aștept și aș vrea să caut.

De unde provine apa de pe Pământ? Aceasta este o întrebare interesantă și încă în mare parte deschisă. Au adus „bulgări de zăpadă murdari” precum Ceres apă din spațiul extraterestru pe planeta noastră, praful murdar ajutând apa să se cristalizeze în gheață? Poate bulgărele de zăpadă să fie atât de mare încât să explice toată apa de pe „planeta noastră albastră”, care pare albastră din nave spațiale, deoarece 2/3 din ea este apă? Astrofizicianul Anna Frebel a calculat că fiecare cutie de Coca Cola de astăzi conține 5% din apa fosilă care datează de la Big Bang, acum 14 miliarde de ani. Prin urmare, am adăugat băutura la colecția mea de curiozități.

În urmă cu aproximativ 4 miliarde de ani, o stea de mărimea planetei Marte a lovit Soarele și a desprins Luna, cel puțin conform teoriei principale. De atunci, Luna s-a îndepărtat de Pământ cu 3,8 cm în fiecare an. Luna determină ritmul nostru de zi și noapte, care a crescut de la 6 la 24 de ore. Luna a fost esențială la începutul vieții. Marte este prea departe de soare, în timp ce Venus este prea aproape de soare și, prin urmare, prea fierbinte. Jupiter este garda noastră de corp, deoarece atrage - cu masa sa de 300 de ori mai mare - resturile de pietre din Univers și le ține departe de Pământ. Am fost norocoși - până acum. Există întotdeauna amenințarea că unul dintre acești asteroizi ar putea lovi Pământul. În picioare, în anul 2029 ne așteptăm ca Apophys să lovească Pământul. Unele dintre cele mai recente calcule preconizează că, din fericire, acesta ne va rata de puțin!

Viața pe Pământ a început cu aproximativ 3,8 miliarde de ani în urmă. Aceasta a fost cu aproximativ 10 miliarde de ani mai târziu decât Big Bang-ul. Scoarța Pământului avea o formă diferită de cea de astăzi și plutea deasupra interiorului topit al Pământului. Până astăzi, plăcile tectonice au continuat să se miște, iar distanța dintre America și Europa crește cu 2,5 cm anual. În Asia, ciocnirea plăcilor a construit Himalaya și continuă să o facă, provocând cutremure teribile chiar și astăzi. Plăcile pot fi detectate în întreaga lume ca „inele de foc” ale vulcanilor activi. În

punctele de contact dintre continente, fundul oceanelor s-a deschis, vulcanii s-au format şi au scuipat magmă, care s-a solidificat rapid în apa de pe fundul oceanului. De acolo s-au format coşuri înalte, orificiile hidrotermale sau „fumătorii negri”. Din aceşti vulcani de pe fundul oceanelor s-au degajat praf şi fum negru. Apa de acolo poate ajunge la 400°C, din cauza presiunii ridicate de la aceste adâncimi. Undeva acolo, a început viaţa. Acest lucru este aproape general acceptat astăzi. În oceane, la 200 de metri adâncime şi mai departe, nu mai există lumină solară, deci nu soarele a furnizat energia: mai degrabă, reacţiile chimice au fost cele care au furnizat energia pentru începutul vieţii. Începutul vieţii, fără lumina soarelui, s-a bazat pe producerea de energie chimică. Acesta a fost motorul vieţii. În opinia multor oameni de ştiinţă, acolo au apărut primele molecule biologice, cum ar fi ARN-ul. Elementele de bază ale ARN-ului, nucleotidele, sunt destul de complexe. Cum ar fi putut fi primele, a fost contraargumentul unor oameni de ştiinţă. Astăzi se poate imita generarea lor în laborator. Recent, un chimist din Anglia, John D. Sutherland, a produs toate cele trei componente principale ale vieţii (nucleotide pentru acizii nucleici, aminoacizi pentru proteine şi acizi graşi pentru grăsimi) într-un singur vas de reacţie, pornind de la ingrediente şi substanţe chimice foarte simple: hidrogen cianide, hidrogen sulfurat, fosfat, apă (HCN, H2S, P, H20) şi energie sub formă de lumină ultravioletă în acest caz. Unele minerale au accelerat reacţia în mai multe etape „*one pot*”, după cum afirmă autorii. Reacţiile chimice prebiotice au fost susţinute de zinc şi cupru în calitate de catalizatori. Astfel, materialul biologic s-ar fi putut forma chiar dintr-o dată. Începutul trebuie să fi fost simplu - asta este ceea ce cred eu. Acest lucru pare simplu.



Ventilațiile hidrotermale sau fumătorii negri reprezintă vulcani în adâncul mării, unde a început viața.

În loc de Adam și Eva

Viaţa timpurie şi-a creat propriile condiţii de creştere. Ea nu s-a adaptat la mediul existent, ci a creat singură condiţiile necesare, în special oxigenul. Lumina a contribuit (prin fotosinteză) la creşterea cantităţii de oxigen, care a înlăturat metanul, dominant la acea vreme. Concentraţia de oxigen a crescut şi a devenit baza respiraţiei mamiferelor. Acum aproximativ 2,2 miliarde de ani, Pământul a îngheţat. Totuşi, viaţa exista deja. Unde s-a ascuns? Lângă sobă, în orificiile submarine hidrotermale fierbinţi? Au protejat ele viaţa de dispariţie? De asemenea, se poate concepe că viaţa nu a început la cald, ci la rece; este posibil ca viaţa timpurie să fi existat în cristale de gheaţă, cu fluide care treceau prin canale, iar unele molecule să fi condus la biomolecule precum ARN.

Această teorie are unii adepți, deoarece ARN-ul a fost găsit în cristale de gheață cu fluxuri de fluid în interior. ARN-uri model sunt chiar investigate după depozitarea în congelatoare în laborator - se schimbă, suferă mutații sau evoluează? În apropierea fumătorilor negri, viața a progresat rapid: acum 2 miliarde de ani existau oceane cu bacterii și organisme unicelulare, au crescut colonii de alge, iar acum 600 de milioane de ani s-au dezvoltat bureți, meduze și viermi; acum 500 de milioane de ani existau scoici dure, corali și dinți. Apoi a avut loc așa-numita explozie cambriană, creșterea dramatică a numărului tuturor formelor de viață. Au apărut primele vertebrate. Acum 300 de milioane de ani a apărut peștele pestriț *Coelacanth*, despre care se credea că a dispărut, dar care a fost descoperit accidental de directorul unui muzeu în plasa unui pescar din Africa de Sud în 1999. Genomul său a fost secvențiat, iar acest lucru a permis reconstituirea tranziției de la înotătoare la picioare. Aceasta este o concluzie extrasă din gene! În urmă cu 250 de milioane de ani, Pământul era format dintr-un supercontinent, Pangea, și a avut loc o primă extincție în masă, ceea ce mă face să mă întreb dacă aceasta s-ar putea repeta.

În urmă cu 65 de milioane de ani, o catastrofă a ucis până la 90% din toate speciile vii. Aceasta s-a datorat unui asteroid, un meteorit mare, cât munții Himalaya, care a lovit peninsula Yucatan din Mexic: Probele prelevate din forajele de pe fundul oceanelor, colectate de centrul de cercetare marină „MARE" din Bremen, au furnizat dovada acestei coliziuni. Un strat întunecat lat de 15 cm reprezintă focul și cenușa. Acest strat a fost denumit stratul K-T, indicând perioada de tranziție dintre era cretacică și cea terțiară a Pământului. Acest strat de extincție K-T poate fi găsit peste tot în lume. Creșterea bruscă a cantităților elementului iridiu, denumită „anomalia iridiumului", este, de asemenea, considerată o dovadă a impactului cu un purtător extraterestru. Asteroidul din Yucatan a provocat un tsunami, înalt de 100 m; soarele a fost întunecat de praf, iar dinozaurii au dispărut. Moartea lor a deschis șansa altor animale vii, mici, asemănătoare șoarecilor, care erau omnivore și mâncau orice fără preferință. Asta le-a ajutat să supraviețuiască. Se puteau ascunde sub suprafață în găuri protectoare. În sfârșit, am ajuns noi pe scenă! Acum cinci milioane de ani s-au dezvoltat maimuțele. Cimpanzeii sunt rudele noastre cele mai apropiate, cu un conținut genetic care este identic cu al nostru în proporție de 98,4%. Ce ne diferențiază de ele? Nu doar un creier mai mare, ci și caracteristici speciale - combinatorii - ale genelor noastre care ne-au sporit complexitatea; acest lucru va fi discutat mai târziu. Acum 3,2 milioane de ani, Lucy a trăit în Africa de Est, cel mai vechi strămoș uman. Acum 1,7 milioane de ani, a apărut *Homo erectus*, care a ieșit din Africa. Poate că era capabil să facă și să folosească focul. Putea să vorbească? A dispărut. Apoi, acum 200.000 de ani, a apărut *Homo sapiens*, tot din Africa, și a colonizat Eurasia până acum 60.000 de ani. Neanderthalienii au trăit de acum aproximativ 200.000 de ani până când au dispărut, acum 40.000 de ani. Au murit de foame, de agenți patogeni, de boli, de frig sau de schimbări climatice? Au lăsat în urmă picturi murale în peșteri și unele gene în genomul nostru. Aici îndrăznesc să includ un comentariu: Nu sunt atât de surprins de acest lucru cum au fost unii editorialiști. Cu toate acestea, nu cred rapoartele conform cărora oamenii de Neanderthal sufereau de depresie, de care unii oameni suferă și astăzi. Cine cunoaște secvența genei (genelor) depresiei?

Acum 12 000 de ani, vânătorii și culegătorii s-au stabilit și au devenit agricultori. Apoi strămoșii noștri au început să bea lapte, sau cel puțin majoritatea dintre ei au început. Unii, ca mine de fapt, nu s-au adaptat niciodată la lapte până în ziua de azi. O mutație este necesară pentru digestia acestuia. Laptele a protejat oamenii împotriva deficienței de vitamina D - un avantaj selectiv pentru cei care trăiesc în regiunile nordice mai întunecate ale lumii. În urmă cu aproximativ 12.000 de ani, ultima epocă glaciară s-a încheiat, iar oamenii au putut merge pe jos din Siberia până în America. Acesta a fost începutul civilizației noastre.

Proximitatea dintre animale și oameni a dus la transmiterea bolilor de la animale la oameni, prin mecanismul denumit *zoonoză*. Aceasta rămâne până astăzi cea mai frecventă cauză a bolilor infecțioase: „*bush meat*" cu virusuri de maimuță a ajuns în lanțul alimentar al oamenilor, cauzând HIV, iar Ebola provine de la liliecii fructiferi. În ultimii 2,5 milioane de ani au avut loc aproximativ 20 de perioade glaciare, iar intervalele calde au fost mai degrabă perioade intermediare între perioadele glaciare. O cauză a acestora este schimbarea orbitei Pământului în jurul Soarelui la fiecare 100 000 de ani. Este ușor să ne amintim datele perioadelor glaciare: 450.000, 350.000,

150.000 şi 50.000 de ani în urmă. Ultima s-a încheiat în urmă cu aproximativ 12.000 de ani. Axa Pământului se roteşte în cicluri de 24 000 de ani şi, prin aceasta, ne influenţează clima. Următoarea schimbare, cu o eră glaciară, va avea loc peste 39.000 de ani. Cine se gândeşte la ere glaciare - opusul, încălzirea globală este discuţia noastră actuală. Nu există modele cunoscute în istoria planetei noastre care să explice schimbările rapide ale climei - dar din moment ce au existat ere glaciare, încălzirea globală trebuie să fi avut loc înainte.

La început au fost virușii

„Un început trebuie să fie mic şi simplu". Această afirmaţie pare logică, dar este, de asemenea, doar o credinţă. Bacteriile sau *arhaea* ating dimensiuni *genomice* de aproximativ un milion de nucleotide - ceea ce este de departe prea mare pentru un început. Cel puţin asta cred eu. Trebuie să fi fost mai mic, mult mai mic, mai primitiv, poate un amestec de mai multe molecule, biomolecule în „micul iaz cald" adesea citat de Darwin. Acolo ARN-ul, ca primă biomoleculă, ar fi putut fi începutul arborelui vieţii. Descoperitorii virușilor gigantici susţin cu tărie ideea că virușii gigantici au apărut primii acolo, dar este posibil ca ei să fie părtinitori - aceşti viruşi sunt prea mari pentru un început. Primul ARN este deja cumva un virus gol - mai exact, un **viroid**. Acest tip de ARN continuă să bântuie celulele noastre şi astăzi. (Detaliile vor veni mai târziu).

Virușii au existat încă de timpuriu; nicio pipetă din lume şi nicio infecţie nu ar fi putut provoca o astfel de răspândire mondială a virușilor - aceştia pătrund în fiecare fiinţă vie, fără excepţie. La urma urmei, există aproximativ 1,8 milioane de specii diferite cunoscute pe planeta noastră şi de aproximativ zece ori mai multe necunoscute, fără a include bacteriile. Nu există excepţii - chiar dacă cercetătorii, inclusiv eu, continuă să le caute. Nu am reuşit să găsesc un sistem biologic fără virusuri - sau poate unul singur, viermele *C. elegans* ?. Acesta are cea mai puternică apărare antivirală! Prin urmare, trebuie cel puţin să fi experimentat viruşi în trecut, deoarece apărarea antivirală provine de la viruşi! După cum veţi vedea .....

Ce credea Darwin despre originea vieţii? A fost prudent şi a menţionat într-o scrisoare către un prieten - botanistul Joseph D. Hooker, director al Kew Gardens din Londra - datată 1871: „Se spune adesea că sunt prezente toate condiţiile pentru prima producţie a unui organism viu, care ar fi putut fi prezente vreodată. Dar dacă (şi oh! ce mare dacă!) am putea concepe într-un iaz mic şi cald, cu tot felul de săruri amoniacale şi fosforice, lumină, căldură, electricitate etc. prezente, că s-a format chimic un compus proteic gata să sufere modificări şi mai complexe, în zilele noastre o astfel de materie ar fi devorată sau absorbită instantaneu, ceea ce nu ar fi fost cazul înainte de formarea creaturilor vii." Astfel, începutul nu se poate repeta cu uşurinţă astăzi. Condiţiile de mediu de pe Pământul primordial nu sunt cunoscute. Dar Darwin a mai spus că nu putem exclude posibilitatea ca toate creaturile vii de pe Pământ să aibă o singură origine. Ca fost fizician, împărtăşesc cu entuziasm acest gând simplu.

Recent am publicat un articol cu titlul: „*Sunt virușii cei mai vechi strămoşi ai noştri?*" (EMBO Report 2012). Cu semnul întrebării la sfârşit, deoarece nu putem fi cu adevărat siguri, articolul a fost plasat în categoria „Opinie". În curând, un cititor mi-a trimis un e-mail, indicându-l pe Felix d'Herelle, care, împreună cu colegul său John Burdon Sanderson Haldane, va fi menţionat mai în detaliu mai târziu; ambii au publicat eseuri, încă din anii 1920, despre viruşi ca posibilă origine a vieţii. La acea vreme, d'Herelle tocmai descoperise fagii, virușii bacteriilor. Imediat, cei doi cercetători au speculat că virușii, care se pot autoreproduce, sunt „originea primordială", aşa cum a numit-o Darwin. Eu împărtăşesc viziunea lor. Cu toate acestea, contemporanii lor au respins vehement această idee.

În fiecare an, agentul şi publicistul newyorkez John Brockman adresează oamenilor de ştiinţă de top o întrebare anuală, „*The Edge*", despre cunoştinţele de mâine. „Ceea ce credem, dar nu putem dovedi: Cei mai importanţi gânditori de astăzi despre ştiinţă în era incertitudinii" a fost întrebarea din anul 2005. Răspunsul meu ar fi fost: Virușii au ajuns primii aici!

Acest lucru necesită o definiţie a ceea ce sunt exact virușii.

Privind în urmă

Ce este un virus? În primul rând, cuvântul „virus” în latină înseamnă sevă, mâzgă sau otravă.

Un coleg - Eckard Wimmer de la Stony Brook din SUA - studiază una dintre cele mai mici particule de virus uman, cea care provoacă poliomielita, care conţine 3 326 552 atomi de carbon, 492 288 atomi de hidrogen, 1 131 196 atomi de oxigen, 98 245 atomi de azot, 7501 atomi de fosfor şi 2340 atomi de sulf. Deoarece este posibilă această descriere de tip molecular, el desemnează virusul ca fiind o substanţă chimică, cel puţin atâta timp cât se află în afara celulei. În interiorul celulei, virusul nu mai este de fapt doar o substanţă chimică, deoarece se reproduce şi se multiplică. O astfel de separare în două forme de viaţă este cu totul unică. Atunci oamenii sunt şi ei doar substanţe chimice? Acesta nu poate fi răspunsul.

Cu doar 120 de ani în urmă, virusurile au fost pentru prima dată transmise experimental, provocând boli. Filtratul de pe frunzele de tutun bolnave a fost transferat pe cele sănătoase, care la rândul lor au fost infectate. Descoperitorul a fost botanistul rus Dmitri Ivanovski în 1892. Cu toate acestea, el a crezut întotdeauna că se află în faţa a ceva legat de bacterii. Prin urmare, microbiologului olandez Martinus Beijerinck i se atribuie descoperirea virușilor, chiar dacă el însuşi a recunoscut munca lui Ivanovski. Beijerinck a inventat cuvântul „virus” pentru a le deosebi de bacteriile mai mari, care nu pot trece prin filtre, aşa-numitele filtre Cham-berland, prin care trec doar virușii mici. La animale, Friedrich Loeffler şi Paul Frosch au descoperit aproape în acelaşi timp - în 1898 - un mic agent transmisibil care provoacă febra aftoasă la bovine. Virusul infectează vacile şi este extrem de contagios, motiv pentru care primul institut de cercetare pentru studierea acestui virus a fost înfiinţat pe o peninsulă din Marea Baltică. Cu toate acestea, vântul era suficient pentru a răspândi virusul chiar şi de acolo. Acest institut de cercetare, numit LFI după cei doi pionieri menţionaţi mai sus, este cel mai mare de acest gen din Europa. Redeschiderea sa în urmă cu câţiva ani a atras atât de mulţi curioşi încât, în cele din urmă, nimeni nu a mai putut ajunge acolo din cauza ambuteiajelor. Camerele de sterilizare (autoclave) de acolo sunt suficient de mari pentru a dezinfecta cadavre de vaci întregi.

Până de curând se considera de la sine înţeles că toţi virușii sunt mici, sunt nanoparticule, nu pot fi detectaţi decât la microscopul electronic, nu pot fi reţinuţi de filtre şi conţin fie ARN, fie ADN, adesea în structuri proteice simetrice precum icosaedrele; nu se replică singuri, sunt paraziţi, au nevoie de celule în care să se reproducă, nu pot efectua sinteza proteinelor şi au nevoie de energie de la celulă. Majoritatea sunt specializate pentru a trăi în anumite gazde şi sunt uneori acoperite de un înveliş care poate fi derivat din celula gazdă şi care adesea poartă şi receptori pentru legarea de anumite celule gazdă. Sunt agenţi patogeni, provoacă boli, sunt periculoşi, îşi fură genele de la gazdă, îşi trădează şi abuzează de celulele gazdă în beneficiul propriei progenituri, folosesc deghizări şi se ascund în cai troieni. Pe scurt: virușii sunt duşmani.

În ultimii ani am descoperit că aproape toate acestea sunt greşite. Virusurile nu sunt doar mici; ele pot fi mai mari decât multe bacterii. Virușii înşişi pot fi gazde de viruşi, pot fi mult mai mari decât nanoparticulele - sau chiar mult mai mici; de fapt, ei nu sunt întotdeauna particule! Ei pot avea dimensiuni care variază de 10 000 de ori - o gamă foarte largă - au morfologii foarte diferite, aproximativ o duzină de tipuri diferite de genomuri şi o varietate de strategii de replicare total diferite. Numărul de gene pe care le poate avea un virus ajunge de la zero (!) la 2 500 - pentru comparaţie, oamenii au 20 000, doar de zece ori mai multe. „Genele zero” sunt prezente în *viroizi* - deşi aceştia nu sunt în general acceptaţi ca fiind virușii. Există virușii care constau numai din acizi nucleici, fără proteine, sau (invers) numai proteine fără acizi nucleici. Acestea din urmă sunt *prionii*, care nici ei nu sunt adesea consideraţi virușii, dar aş dori să îi includ şi pe aceştia. Există virusuri care au numai gene străine şi niciuna proprie, cum ar fi virusurile foarte exotice ale plantelor, polivirusurile ADN (sau polidnavirusurile PDV), un fapt care ne poate spune ceva despre evoluţie. Există apoi virușii endogeni, care nu părăsesc niciodată celula gazdă, şi virușii rudimentari care saltă prin genomurile noastre. Aceste două tipuri de virusuri nu au înveliş şi, prin urmare, sunt virusuri blocate, incapabile să se deplaseze între celule.

Virușii sunt elemente (genetice) mobile - este aceasta, probabil, o definiție utilă? Virușii au nevoie de energie, da, dar nu neapărat de la o celulă gazdă. Energia chimică este suficientă, iar aceasta poate proveni din jurul *fumătorilor negri*, unde poate că a început viața și unde nu ajunge niciodată soarele. Virusurile au nevoie de nișe, de compartimente, de argilă drept catalizatori - micul iaz cald al lui Darwin - astfel încât concentrația componentelor să poată fi ridicată. Un astfel de prim tip de compartiment ar fi putut fi *sacii lipidici* și ne putem întreba dacă acesta a fost un virus timpuriu sau o celulă timpurie. Inițial, nu a existat o graniță netă între virusuri și celule - mai degrabă, acestea formează împreună un continuum. În special virușii gigantici recent descoperiți încalcă tabuurile, deoarece sunt aproape bacterii; ei au chiar un semn distinctiv despre care în mod normal se presupune că există doar în bacterii: componente pentru sinteza proteinelor. Acest lucru este adesea folosit ca o definiție a vieții, capacitatea de a sintetiza proteine. Astfel, aceste „aproape-bacterii" reprezintă o tranziție între viruși și bacterii, între viață și fără viață. Descoperirea virușilor giganți a revoluționat viziunea noastră asupra virușilor și i-a apropiat mai mult de „viață" decât se presupunea anterior. O definiție minimalistă a virușilor include incapacitatea lor de a efectua sinteza proteinelor, considerată un semn distinctiv al vieții. Dar virușii giganți pot „aproape" să sintetizeze proteine - până la urmă!

Virușii sunt prezenți oriunde există viață. Virusurile pot prelua și transmite gene, pot suferi mutații, recombina, introduce, șterge sau amesteca gene. Replicarea lor este predispusă la erori și, prin urmare, inovatoare pentru virus și gazdă. Virusurile tumorale pot prelua gene din celulă și le pot muta în timpul replicării, ceea ce le poate crește oncogenitatea. Dar și opusul este adevărat: pot furniza gene celulei, furnizându-i caracteristici noi, uneori benefice, alteori dăunătoare. Ele pot introduce oncogene într-o celulă și provoca cancer sau pot introduce gene pentru a vindeca cancerul. În celule intră mai multe gene decât ies. Virușii nu provoacă „războaie" sau nu duc la „încrucișarea săbiilor" sau la „curse de înarmare"; aceste descrieri negative sunt inadecvate. Ei joacă ping-pong cu gazda lor. Transferul orizontal de gene, între microorganisme și toate celelalte gazde vii, a condus la genomuri complicate. Acesta este modul în care genomul nostru a devenit un amestec atât de colorat de gene provenite de la alte organisme foarte diferite și de la alte gene. fiecare organism are un număr complex de gene preluate de la multe alte organisme, cel mai frecvent, de fapt, de la viruși. Virusurile au de departe cel mai mare repertoriu de gene, cel mai mare spațiu de secvențe disponibil pe Pământ - cea mai mare parte a acestuia nici măcar nu este utilizată. Virușii au o varietate mai mare de gene decât celulele, ceea ce susține afirmația că virușii au apărut primii pe scenă, mai devreme decât celulele (mai multe despre aceasta mai târziu).

Cât de departe știm despre viruși? Să mergem înapoi. Acum 35 de ani HIV a început să invadeze populația umană, provocând până acum peste 37 de milioane de decese. Acum 100 de ani, pandemia de gripă din timpul Primului Război Mondial a ucis probabil până la 100 de milioane de oameni. Rujeola i-a ucis pe maiași după ce a fost importată din Europa de către *conquistadores*. În timpul Evului Mediu, bacteria ciumei a ucis o treime din toți europenii, aproximativ 25 de milioane de oameni. Cu aproximativ 600 de ani mai devreme, în 542, „ciuma lui Iustinian" a devastat Roma și s-a răspândit ca o pandemie în jurul Mării Mediterane până la Constantinopol, ucigând, la apogeu, 6 000 de oameni în fiecare zi. Tucidide a descris o boală necunoscută la Atena în timpul Războiului Peloponesiac, în jurul anului 400 î.Hr., care ar fi putut fi cauzată de Ebola, pojar, rujeolă sau alți viruși, sau de bacteria *pesti*. Un faraon egiptean trebuie să fi suferit de virusul poliomielitei în urmă cu 3500 de ani, după cum reiese dintr-un picior schilodit prezentat pe o piatră funerară. La omul de Neanderthal, care a trăit între 250 000 și 30 000 de ani în urmă, au existat elemente de tip retrovirus, după care neanderthalienii au dispărut. Apoi există un decalaj. O mare surpriză a fost detectarea unui virus asemănător HIV la iepuri, RELIK, datând de acum 12 milioane de ani.

Alte virusuri asemănătoare HIV pot fi datate cu 4,2 milioane de ani în urmă, la *lemurii* (rude ale maimuțelor) de pe insula Madagascar. Nimeni nu a anticipat că virusurile asemănătoare HIV există de atât de mult timp și că pot fi chiar moștenite. Un nou domeniu științific, paleovirologia, a fost un subiect fierbinte de cercetare la Princeton și la Londra în ultimii zece ani. Secvențe din virusul Ebola vechi de 50 de milioane de ani au fost descoperite în genomul liliecilor, porcilor și maimuțelor, în timp ce secvențe din Bornavirus au fost găsite la oameni, dar nu și la cai. Numai caii

se îmbolnăvesc de Bornavirus, în timp ce oamenii nu. Astfel, secvenţele endogene şi produsele lor protejează un organism împotriva bolilor virale corespunzătoare. În mod normal, aceşti viruşi ARN nu ar trebui să se integreze deloc în ADN, dar o fac - prin mecanisme „nelegitime", folosind unele trucuri celulo-moleculare, cum ar fi o transcriptază inversă străină. Chiar şi placenta noastră umană o datorăm unor rude ale HIV, retrovirusul endogen uman, HERV-W, de acum aproximativ 30 de milioane de ani. Se estimează că retrovirusurile endogene umane, care pot fi găsite în genomul nostru uman, datează de acum 35 până la 100 de milioane de ani. Unele dintre acestea sunt viruşi intacţi, care pot forma particule, dar în mod normal nu mai sunt infecţioase. Viruşii endogeni sunt probabil mult mai vechi decât putem judeca, deoarece nu mai pot fi recunoscuţi ca viruşi. Un dinozaur, aflat în prezent la Muzeul de Istorie Naturală din Berlin, a suferit în urmă cu 150 de milioane de ani de o infecţie virală cauzată de un paramixovirus asemănător virusului rujeolei, *osteodystrophia deformans*, care a dus la deformarea oaselor, boală care există şi în prezent şi este cunoscută sub numele de sindromul Paget.

În urmă cu aproximativ 200 de milioane de ani putem observa urme virale, dar călătoria noastră în trecut se încheie aici. Informaţiile despre viruşi dispar în „zgomotul de fond" genetic datorat mutaţiilor. Fosilele retrovirale endogene pot fi detectate ca dovadă a viruşilor. Peştele *Coelacanthy*, recent redescoperit, despre care se presupunea că a dispărut, a existat în ultimii 300 de milioane de ani; este surprinzător de stabil din punct de vedere genetic şi adăposteşte, de asemenea, fosile retrovirale. Există însă trucuri care duc la indicii şi mai vechi despre viruşii timpurii. Viruşii gigantici pot fi găsiţi în *amoebele* de astăzi, dar şi în *macrofage*, două neamuri care s-au despărţit acum 800 de milioane de ani şi s-au dezvoltat independent şi care, prin urmare, se crede că ambele au fost infectate încă dinainte să se despartă. Este aproape imposibil să se obţină dovezi suplimentare care să meargă mai departe de 800 de milioane de ani. Cu toate acestea, rămâne un decalaj enorm până la originea vieţii, acum aproximativ 3,8 miliarde de ani. Viruşii fac probabil parte dintre cele mai vechi fosile biologice cunoscute. O adevărată surpriză sunt *viroizii*, care sunt structuri asemănătoare virusurilor şi sunt prezenţi până astăzi - nu numai ca atare, ci şi ca ribozomi sau rude ale ARN-ului circular în toate celulele noastre umane actuale. Ele datează din epoca în care nu exista un cod genetic - poate acum 3,5 miliarde de ani. Într-o publicaţie ştiinţifică am încercat odată să reconstruiesc evoluţia vieţii pe baza viruşilor de astăzi. Titlul articolului era „*Ce ne spun viruşii contemporani despre evoluţie*" - iar editorul a adăugat „Un punct de vedere personal", pentru a fi siguri! (Archives of Virology, 2013)

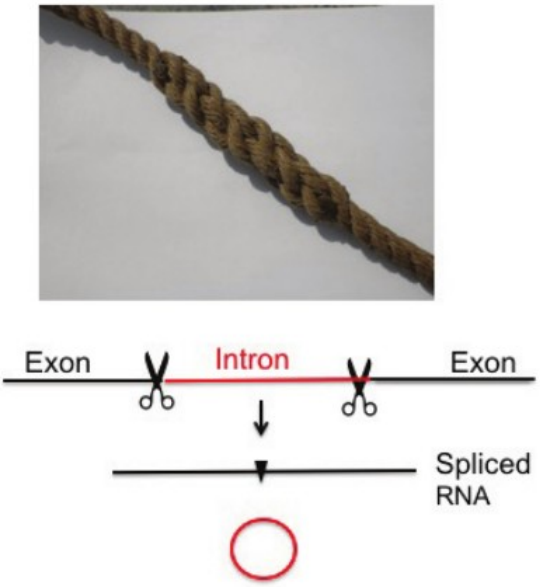
Când genomul uman a fost secvenţiat pentru prima dată şi publicat în urmă cu 15 ani, *Frankfurter Allgemeine Zeitung* (FAZ) a tipărit o pagină întreagă plină cu doar 4 litere: A, T, G şi C, alfabetul vieţii, fără nicio întrerupere, fără cuvinte, fără propoziţii, fără paragrafe. Pagina a fost premiată. Ea indică exact ceea ce ştim despre genele noastre, doar literele! Aproape tot restul aşteaptă încă să fie înţeles. „Analiza textului" este în curs de desfăşurare. Ce înseamnă literele? Există aproximativ 3,2 miliarde de litere în genomul uman, corespunzând la 20 000 de gene; cu toate acestea, genele sunt codificate în doar 2% din întreg. Ce reprezintă „restul", majoritatea literelor? Este, de asemenea, informaţie genetică, sau este „ADN-ul nedorit", adesea citat, sau ce? Voi dezvălui deja ce reprezintă restul: informaţii esenţiale pentru reglarea expresiei genelor în sine. Înţelegerea detaliilor îi va ţine ocupaţi pe oamenii de ştiinţă poate pentru următorii 50 de ani. Proiectul este cunoscut sub numele de „ENCODE": Enciclopedia elementelor ADN.

Iată câteva cifre care merită reţinute: Viruşii precum HIV au aproximativ 10 gene, fagii au 70, bacteriile 3000, oamenii 20.000 până la 22.000, iar bananele au 32.000 - mai multe decât oamenii? Da, surprinzător! Totuşi, bananele nu sunt mai inteligente decât noi. Acest lucru a fost numit cândva chiar un paradox: dimensiunile genomurilor sau numărul de gene NU sunt corelate cu complexitatea unei specii. Oamenii nu au cel mai mare număr de gene, dar au genele cele mai lungi şi, cel mai important, aceste gene pot fi recombinate mult mai bine (prin splicing; a se vedea secţiunea următoare) pentru a creşte complexitatea lor generală, depăşind în acest sens toate celelalte specii cunoscute. În sfârşit: o genă a unui virus este alcătuită din aproximativ 1000 de nucleotide.

Înainte de a continua, fiecare cititor trebuie să învețe două cuvinte, sau cel puțin abrevierile lor: ARN și ADN. Se pot memora pur și simplu, împreună cu câteva informații suplimentare. ARN și ADN sunt molecule mari, purtătoare ale informațiilor genetice organizate în regiuni sub formă de gene. Informația genetică primară este în mod normal codificată în ADN; numai virușii pot folosi și ARN sau chiar amestecuri de ARN și ADN ca informație genetică primară. ADN-ul este numit molecula vieții. Este cunoscut de toată lumea sub numele de *dublu helix*, semănând cu o scară circulară cu două balustrade (fire) conectate prin bare orizontale ca niște scări (baze stivuite). Această structură a fost descoperită de James D. Watson și Francis Crick în 1953, pe atunci tineri, aventuroși și ambițioși oameni de știință din Cambridge, Marea Britanie, „niciodată într-o dispoziție modestă" - cel puțin aceasta este prima frază cu care Watson l-a descris pe Crick în celebra sa carte *The Double Helix*. Au vrut să câștige premiul Nobel și au reușit. Informații importante au venit și de la Rosalind Franklin, care a produs datele structurale prin analiza modelelor de difracție cu raze X, pe care a încercat să le ascundă. Le-a spus ea cu adevărat că modelul lor era greșit, că trebuia întors pe dos? Watson însuși descrie descoperirea în cartea sa, un bestseller. O nouă piesă de teatru se ocupă de fotografia lui Franklin, *Photograph 51*, o poveste polițistă a dramaturgului american Anna Ziegler despre modul în care fotografia cu raze X a lui Franklin a contribuit la descoperire, fără ca aceasta să știe vreodată despre contribuția sa importantă. Aceasta a murit de cancer ca urmare a experimentelor sale cu raze X, din păcate, deoarece era încă tânără. Mai puțin menționat este șeful de departament al lui Franklin, pe care ea nu l-a acceptat ca atare, și care a împărțit premiul Nobel: Maurice Wilkins. Acesta a primit materialul de pornire, o mulțime de ADN pur, de la un coleg elvețian care l-a distribuit cu generozitate. Wilkins l-a folosit ca pe o sursă esențială pentru cristalizare. Ulterior, el a intrat sub spoială politică pentru o posibilă implicare în comunism și este mai puțin recunoscut. ADN-ul este bicatenar, în timp ce ARN-ul este monocatenar, mai flexibil, ca o funie; suferă variații mai ușor și este foarte important pentru descoperirea de noi secvențe de către viruși. Crick a formulat „dogma centrală a biologiei moleculare": de la „ADN la ARN la proteine", descriind fluxul de informații genetice din interiorul celulei. Unii oameni spun că Crick nu a fost dogmatic în gândirea sa, dar oricum numele său a devenit atașat dogmei. ADN-ul a dominat gândirea biologilor moleculari timp de o jumătate de secol, dar acum ARN-ul recuperează din importanță. ARN-ul a apărut mai devreme în evoluție, înaintea ADN-ului, astfel încât și reversul dogmei este adevărat: ARN-ul se poate transforma în ADN. Aceasta este ceea ce am învățat de la viruși. Așadar, dragă cititorule: mai multă biologie moleculară nu este - aproape - necesară. Multe detalii pot fi omise, iar unele detalii suplimentare sunt enumerate în Glosar.

Un marinar și lipirea

În timp ce navigam pe Marea Baltică pe goeleta cu trei catarge *Lily Marleen*, un marinar m-a surprins într-o dimineață cu un cadou: o frânghie „lipită". El conectase două frânghii prin „îmbinare", ca piesă demonstrativă pentru studenții de la cursurile mele de virologie. *Splicarea* necesită o anumită îndemânare, a spus el, și l-a ținut ocupat în timpul gărzilor de noapte plictisitoare. O carte intitulată *Splices and Knots* învață arta acestora așa cum sunt folosite în navigație. O carte cu aceeași tentă ar putea fi importantă și în biologia moleculară. O îmbinare este, într-un fel, opusul unui nod. Numai atunci când o frânghie este îmbinată, marinarul poate trece bucățile conectate, rapid și fără niciun obstacol, prin scripeți pentru a trage pânza; un nod ar constitui un obstacol în acest sens. Același principiu este valabil și în lumea moleculară. ADN-ul bicatenar este transcris în ARN monocatenar, o copie flexibilă a ADN-ului rigid. ARN-ul - asemenea unei frânghii - poate fi scurtat prin îmbinare: frânghia este tăiată, se îndepărtează o bucată, iar capetele astfel obținute sunt conectate fără noduri - prin îmbinare. Lungimea bucăților îndepărtate poate fi diferită, iar acum pot să mai scot o pisică din sac: oamenii au cel mai mare număr de astfel de porțiuni îndepărtabile per genă. Acest lucru ne face mai complicați decât orice alt animal viu. În aceasta constă unicitatea noastră; poate că suntem până la urmă „încoronarea creației".



Splicarea fără noduri (despicarea și îmbinarea) ARN-ului permite combinații de exoni pentru a construi gene noi cu o complexitate ridicată, intronul este șters.

Genele noastre sunt divizate, constând din exoni - regiuni care pot fi traduse în proteine - și introni - regiuni intermediare, care sunt eliminate prin tăierea și îmbinarea (reunirea) extremităților ARN. Genele umane au în medie aproximativ șapte până la nouă exoni, intercalați de introni. Gândiți-vă la un gard de grădină, cu scândurile sale și spațiile dintre ele: acestea ar corespunde *exonilor* și, respectiv, *intronilor*, deși exonii și intronii sunt mai puțin regulat distanțați. În plus, unii *introni* pot fi foarte mari (imaginați-vă o poartă în gard).

Se pot combina diferitele conexiuni posibile între *introni* și *exoni*, intronii fiind în mod normal părțile eliminate. *Intronii* nu sunt chiar „goi”, așa cum sunt golurile din gard. Ce informații conțin ele? Ele nu codifică proteine, ci direcționează și reglează producția de proteine; ele adăpostesc informații de reglementare, determinând unde și când trebuie produse proteinele. Astfel, *intronii* controlează *exonii*. Oamenii de știință obișnuiau să creadă că *exonii* sunt mai importanți, dar astăzi se recunoaște că aceștia sunt chiar dependenți. Conform definiției științifice, *exonii* „codifică” pentru proteine, în timp ce *intronii* sunt „necodificatori” (**nc**). Catalogul ARN-urilor **nc** cunoscute este o familie în creștere rapidă de ARN-uri de reglementare foarte importante - aproape o duzină dintre acestea au fost descoperite recent. Prin urmare, dragă cititorule, te rog să ții minte „**ncRNA**”. ADN-ul corespunzător se numește **ncDNA**, care este transcris pentru a da **ncRNA**. Mi se pare deosebit de interesant faptul că oamenii și virușii sunt campionii mondiali la *splicing*! De ce virușii? Pentru că fac atât de mult din atât de puțin! (Strămoșii noștri!) Marinarul nu știa cât de complex era fondul din spatele frânghiei *splicuite* pe care mi-a făcut-o cadou.

Ca exemplu de generare a mai multor „mesaje” dintr-un singur „mesaj” atotcuprinzător, gândiți-vă la câte cuvinte puteți genera din *exoni* combinați, după îmbinarea peste orice lacune: ***supercalifiagilisticexpialidocious*** - nu cel mai lung cuvânt englezesc, dar cel mai cunoscut pentru lungimea sa - doar prin ștergerea (dar nu și rearanjarea) literelor și astfel create: **super**, *supercilious*, **perfidious**, *precious*, **serious**, *superficial*, **fragile**, *pallid*, **series**, *focus*; mai sunt multe altele și poate doriți să încercați dumneavoastră. Virușii îmbină numai în interiorul unui cuvânt, deoarece echipamentul lor minimalist cuprinde *exoni* și niciun *intron*. În aceste moduri diferite, noi și virușii am învățat să folosim cât mai bine posibil materialul nostru genetic. Această complexitate se află în centrul complexității organismului uman și al virusurilor, motiv pentru care am fost dublu recunoscător pentru cadoul marinarului.

Virușii - morți sau vii?

Virusurile nu sunt lipsite de viață - cel puțin nu la fel de lipsite de viață ca o piatră sau un cristal. Se poate simplifica excesiv problema și spune că orice este mai mic decât un virus este lipsit de viață, iar ceea ce este mai mare este viu. Așadar, virușii sunt la limită: morți sau vii sau ambele. Eu nu văd o singularitate, nici un punct, nici o limită clară, ci mai degrabă o tranziție continuă de la biomolecule individuale până la celulă. La originea vieții, virusurile ARN erau cele mai mari biomolecule, iar de atunci au fost mereu prezente.

„Ce este viața?" Această întrebare a fost pusă în 1944, în mareea celebrei cărți a fizicianului Erwin Schrodinger, teză care a mobilizat o întreagă generație de fizicieni în cercetarea biologică. Viața urmează legile termodinamicii și ale conservării energiei. Celulele vii se caracterizează printr-o entropie negativă bazată pe structuri organizate, entropia fiind adesea descrisă simplu ca o „măsură a dezordinii". De exemplu, biroul meu devine din ce în ce mai dezordonat dacă este lăsat în voia lui; cu toate acestea, dacă reușesc să adun suficientă energie pentru a-l curăța, atunci devine ordonat și îngrijit. Viața și a doua lege a termodinamicii urmează această regulă: nutriția și energia permit o viață ordonată. Desigur, Schrodinger se întreba despre legile vieții, nu despre originea vieții.

Cred că NASA trebuie să aibă o definiție bună a vieții, deoarece NASA încearcă să găsească viață în afara planetei noastre. Ei știu cu siguranță ce caută. Este posibil ca Jerry Joyce, pe atunci la Institutul Salk din California, să fi contribuit la definiția lor atunci când a reușit să producă ARN autoreplicant într-o eprubetă, ARN care era, de asemenea, capabil să mute și să evolueze. Aceasta a fost abordarea sa pentru „repetarea originii vieții". Este posibil ca el să fi inspirat agenția spațială americană NASA, care a formulat o definiție a vieții ca fiind un sistem autoreplicant care conține informații genetice și este capabil să evolueze. (Aș omite chiar cuvântul „genetic", deoarece informațiile structurale capabile să evolueze ar fi de asemenea posibile. Mă gândesc la *viroizi*).

Virușii pot fi comparați cu merele. Un măr de pe o masă nu se poate duplica și transforma în două mere - și nici un virus nu poate face acest lucru. Un măr are nevoie de pământ pentru a deveni un măr și pentru a produce astfel noi mere. Sunt merele vii? Ce se întâmplă atunci cu virușii? Ne poate ajuta Charles Darwin? El și-a imaginat un „iaz mic și cald" ca fiind locul în care viața ar putea lua naștere și și-a imaginat că începutul a fost simplu - dar nu a prezis mai mult de atât. Un virus are nevoie de un iaz sau cel puțin de o eprubetă - un mediu cu nutrienți pentru replicare și pentru producerea progeniturilor. Iar virușii sunt simpli. Așadar, virușii sunt mai vii decât pietrele și doar pietrele sunt cu adevărat moarte. În mod surprinzător, unii viruși se pot agrega și pot forma structuri simetrice cvasi-cristaline, care sunt extrem de stabile și rezistente la căldură, iar din acest punct de vedere seamănă într-adevăr cu pietrele. Cristalele cu malformații își pot chiar perpetua misfolding-ul într-un mod care seamănă aproape cu replicarea. Unele agregate proteice din creier se pot comporta astfel - *prionii*, de exemplu; așadar, sunt și ei ceva asemănător virușilor? Eu sugerez că da, după cum vom vedea!

În general, bacteriile sunt considerate microorganisme vii: se pot diviza și, prin urmare, se pot reproduce și - cel mai important - pot sintetiza proteine. Sinteza proteinelor este acceptată ca un marker important care distinge materia vie de cea nevie. De asemenea, bacteriile au nevoie de hrană din exterior; totuși, nici ele nu sunt entități complet independente. Iar bacteriile nu sunt simple! Nu există nicio „mașină cu mișcare perpetuă" biologică, care să poată funcționa fără o sursă de energie. Cu toate acestea, energia nu trebuie să provină neapărat de la o celulă. Energia poate fi chimică, fără să existe soare în jur, ca în cazul *fumătorilor negri* din adâncurile oceanului.

În mod surprinzător, virușii giganți descoperiți recent conțin componente pentru sinteza proteinelor. Ele sunt deci foarte apropiate de bacteriile vii, sunt „cvasi-bacterii". În consecință, virusurile gigant sunt denumite și „mimivirusuri", deoarece par să imite bacteriile. La fel ca bacteriile, acești viruși giganți sunt gazde pentru viruși mai mici, care se replică în interiorul celor mai mari. Toate acestea au fost extrem de iritante pentru virologii clasici, deoarece nicio convenție sau definiție anterioară a virușilor nu se potrivea cu acești viruși giganți. Descoperirea lor în 2013 a fost comentată în revista *Nature*, în sensul că virușii se califică acum pentru a lua loc la masa la care se dezbate viața și că ar trebui să fie plasați la baza arborelui vieții, aceasta este ceea ce sperau

descoperitorii mimivirusurilor! La bază nu existau încă celule şi nu există nici mimivirusuri - ambele sunt uriaşe în comparaţie cu virusurile, prin urmare ambele nu pot reprezenta originea arborelui vieţii. Probabil, primii viruşi nu aveau nevoie de celule. Aceasta este o idee riscantă şi singura complicaţie în speculaţia mea conform căreia „viruşii au apărut primii". Viruşii de astăzi au nevoie de celule, dar acesta ar fi putut fi rezultatul unei evoluţii îndelungate. Într-adevăr, există *viroizi*, ARN goi, care se pot replica şi evolua şi care, iniţial, este posibil să nu fi depins de celule, aşa cum o fac astăzi. Ei sunt capabili să facă toate acestea în eprubeta lui Joyce - fără celule. Aceştia ar putea fi denumiţi „viruşi goi".

Virusurile sunt inventatori şi furnizori de inovaţii genetice. Ei au construit genomurile noastre. Aceasta este ceea ce cred, şi o voi menţiona de mai multe ori, crezul meu, *ceterum censeo-ul* meu.

Viruşii au contribuit cu siguranţă la construirea celulelor. Acesta este într-adevăr un fapt real şi nu o speculaţie. Astăzi sunt paraziţi şi depind de celule. Un parazit poate delega funcţii gazdei sale şi poate scăpa cu mai puţine gene decât dacă este singur sau trebuie să supravieţuiască în afara unei celule gazdă. În prezent, detectăm numai virusurile parazitare dependente de celule. Evoluţia nu a trecut doar de la structuri simple la structuri complicate, ci a mers şi în direcţia opusă. Sistemele complicate pot deveni mai simple: ele pot pierde gene, pot delega funcţii şi se pot specializa. În funcţie de mediu, abilităţile pot fi dobândite sau pot fi abandonate şi pierdute. Mitocondriile sunt un exemplu. Aşteptaţi ultimul capitol al cărţii!

Cum interacţionează viruşii cu celulele lor gazdă? Există celule gazdă fără nucleu, *procariotele*, care includ bacteriile şi *arhaea*, şi celule care conţin nucleu, *eucariotele*, care includ insectele, viermii, plantele, mamiferele etc. Toate acestea adăpostesc viruşi, viruşii bacterieni având o denumire suplimentară, bacteriofagi sau doar *fagi*. Cu toate acestea, nu este necesară diferenţierea între virusuri şi fagi. Acestea se comportă foarte asemănător în celulele lor gazdă. Există câteva caracteristici posibile ale „ciclurilor lor de viaţă" - sau cicluri de replicare: intrarea virală pentru infecţie, după care virusul poate persista, se poate integra, replica şi/sau litiza. Persistenţa - adesea neobservată de gazdă - este o stare cronică sau de lungă durată. Herpesvirusurile se ascund astfel în neuroni, unde pot rămâne ani de zile. Mulţi viruşi vegetali persistă pentru totdeauna, fără să dobândească niciodată o haină, fără să devină niciodată activi (sau virulenţi) şi fără să se propage întotdeauna împreună cu celula vegetală. *Fagii* pot persista ca *profagi* integraţi în celule; aceasta este denumită stare lizogenă. De asemenea, retrovirusurile şi unele alte virusuri ADN se pot integra în ADN-ul genomului gazdei. Gazda deţine atunci câteva gene în plus. Cu toate acestea, integrarea poate provoca, de asemenea, efecte genotoxice sau mutagene şi poate fi nocivă pentru celulă. *Fagii* şi *viruşii* îşi pot liza celula gazdă, eliberând mii de progenituri virale, adesea ca răspuns la stres, ceea ce este similar cu experienţa noastră de stres: fără spaţiu, fără hrană! O programare la dentist poate avea acelaşi efect, apoi herpevirusurile se târăsc din nişa lor până la buze şi provoacă o leziune. Amintiţi-vă această regulă generală: invadatorii străini pot duce la integrare sau la distrugerea legată de stres - acest lucru este valabil chiar şi pentru societăţi!

Viruşii îşi vor distruge gazdele şi vor duce la sfârşitul omenirii, omorându-ne pe toţi? Nu, acesta este un basm şi nu se va întâmpla. Ar fi un nonsens din punctul de vedere al evoluţiei, deoarece atunci virusurile ar elimina baza propriei existenţe sau „supravieţuiri" şi s-ar stinge singure. Atunci când majoritatea celulelor gazdă au dispărut, acestea sunt atât de rare încât virusul nu le va găsi niciodată pe ultimele. Prin urmare, dacă există o penurie de gazde, atunci virusurile se adaptează la noi tipuri de gazde. Aceasta este periculoasa „zoonoză" în care oamenii sunt infectaţi cu virusuri animale pe care nu le-au mai întâlnit până acum. Înainte ca toate gazdele să fie eliminate, viruşii vor găsi un aranjament. Aceasta este o tranziţie de la un comportament parazitar la o coexistenţă - adesea mutualistă, adică în beneficiul atât al virusului, cât şi al gazdei. Dacă virusul sprijină supravieţuirea gazdei, atunci creşte şansele de supravieţuire atât pentru el însuşi, cât şi pentru progeniturile sale. Co-evoluţia poate duce la un comportament mai puţin agresiv sau mai puţin virulent. Acest lucru se poate întâmpla în două moduri: fie gazda dezvoltă o rezistenţă mai mare, fie virusul devine inofensiv. Aceasta din urmă poate fi obţinută prin endogenizarea

secvențelor virale în genomul gazdei - genomul nostru este plin de ele, un cimitir al foștilor viruși. Endogenizarea va fi discutată mai jos.

Pe parcursul evoluției, mulți viruși au devenit mai puțin dăunători pentru gazdele lor. Virusurile Ebola, de exemplu, au dezvoltat un astfel de aranjament cu liliecii (principala lor gazdă), iar virusurile SARS au procedat la fel. În mod similar, echivalentul HIV la maimuțe (SIV) nu mai provoacă boli la maimuțe. Așadar, dacă vom aștepta suficient de mult, vom avea și noi o relație de prietenie cu HIV? Predicția mea este că da, dar va trebui să așteptăm mult timp.

2. Virușii - cum ne îmbolnăvesc

Virușii au scris istorie

Una dintre cele mai mari poveşti de succes în medicină a fost eliminarea poxvirusurilor. Epidemiile de *poxvirus* nu ar mai trebui să fie posibile, deoarece oamenii au învățat cum să se vaccineze împotriva virusului: variola previne variola - aceasta a fost descoperirea lui Edward Jenner, care a testat pentru prima dată acest vaccin cu fiul său în 1796 şi a salvat mai multe vieţi decât a făcut-o oricine altcineva în lume. Jenner a descoperit principiul despre cum să genereze un vaccin - utilizarea unui virus înrudit care provoacă o boală uşoară la om, care protejează împotriva virusului periculos. Un virus *de variolă* în loc de variolă este un astfel de vaccin „atenuat" de succes. Virusul este considerat dispărut. În mod surprinzător, ocazional mai există unele focare de variolă - virușii nu dispar niciodată complet.

Au mai rămas doar câteva laboratoare, în SUA şi în Rusia, în care virușii variolei sunt păstrați în condiții de siguranță. Cât de sigure sunt acestea împotriva abuzurilor unui atac bioterorist? Această posibilitate a părut să devină reală după bioterorismul cu *antrax* din SUA din 2001, care a provocat câteva decese şi a dus la o căutare febrilă a resturilor de vaccinuri împotriva variolei, care fuseseră depozitate timp de decenii. Acestea fuseseră produse pe piei de animale şi nu corespundeau în niciun caz unor standarde de siguranță acceptabile, dar au fost apoi preparate din nou ca vaccin după o diluare de cinci ori pentru a creşte numărul de doze! În departamentul meu de diagnosticare din Zurich am dezvoltat rapid un test pentru virusul **pox**. Informațiile necesare cu privire la secvența virală erau disponibile gratuit pentru toată lumea prin intermediul internetului! Ne-am antrenat chiar şi cum să reacționăm în cazul unei alarme de **poxvirus**, cum să pregătim probele pentru o metodă de diagnosticare extrem de sensibilă. Teama era un atac bioterorist împotriva participanților la Forumul Economic Mondial anual de la Davos. Ne-am îmbrăcat în haine speciale de siguranță, inclusiv măşti, pe care mulți le-au văzut în filmul „*Outbreak*" cu Dustin Hoffman. Ne-am antrenat cu o cameră cu presiune scăzută, în cele mai stricte condiții de siguranță, care ar fi împiedicat virușii să scape în exterior - cu toate acestea, camera s-a prăbuşit din cauză că cineva a deschis din greşeală supapa greşită, lăsându-ne cu o grămadă de rămăşițe. Am fost norocoşi şi nu ne-am confruntat niciodată cu o alarmă. Frica a fost încet uitată în întreaga lume! Cu douăzeci de ani mai devreme, am fost martor la ultima alarmă de pojar la Berlin. Un pacient era ținut într-o clădire de carantină, iar polițiştii stăteau afară pe scaune înalte pentru a ține la vedere ieşirile şi a împiedica pacientul să evadeze. Între timp, alături, la Institutul Robert Koch, singurul tehnician cu experiență care mai ştia cum să testeze *poxvirusurile* era ocupat să deschidă ouă de găină pentru a inocula virusul şi a-l incuba pentru propagare - singurul test disponibil în acele zile. Alarma **pox** este prezentată în filmul „*The Virus Empire - Silent Killers*". Acest film foarte informativ a fost produs de experți în scopuri didactice şi îl proiectam întotdeauna la sfârşitul seriei mele de predare a virologiei la Universitatea din Berlin; seria se încheia duminica - şi era încă suficient de atractiv pentru ca studenții să vină. În a doua parte a filmului este prezentată o alarmă fictivă de *poxvirus* în Berlin.

Un alt virus, care ne înspăimântă şi astăzi, este virusul gripei, gripa spaniolă, numită H1N1. În urmă cu aproximativ o sută de ani, în timpul Primului Război Mondial, virusurile gripale au ucis cel puțin 20 de milioane şi posibil până la o sută de milioane de oameni. Virusul a fost izolat abia recent, în 2005, de la soldați şi de la o femeie *inuit* îngropată în permafrostul din tundra Alaskăi - şi reactivat în laborator. Virusul recuperat a fost capabil chiar să infecteze animalele. Acest lucru a fost foarte solicitant din punct de vedere tehnic şi, în plus, extrem de înspăimântător. *Righdy*, presa publică s-a plâns de acest lucru. Oamenii de ştiință doreau să afle de ce acest virus gripal era atât de letal, în special pentru bărbații tineri. Existau doar câteva secvențe speciale de virus care ar fi putut

creşte afinitatea virusului pentru celulele pulmonare şi ar fi putut spori patogenitatea. (Alte modificări sunt la nivelul polimerazei, nucleoproteinei sau hemaglutininei, astfel încât există încă controverse cu privire la care dintre modificări sunt mortale). Principalele cauze ale pandemiei au fost războiul, foametea, umiditatea, temperaturile scăzute, rănile, lipsa igienei, adăposturile şi spitalele de campanie supraaglomerate - toţi factori care nu pot fi deduşi din secvenţa virală, desigur. Toţi aceşti factori au contribuit la catastrofă. De asemenea, trebuie să ne învinovăţim pentru aceasta.

În 2009, în Mexic a apărut gripa porcină, cauzată tot de gripa AH1N1, dar diferită de gripa spaniolă. Organizaţia Mondială a Sănătăţii (OMS) a clasificat focarul drept risc mondial şi l-a declarat epidemie. Acest lucru s-a datorat unei erori de calcul. Raportul dintre persoanele care au murit şi persoanele ipotetic infectate a fost greşit, deoarece nimeni nu cunoştea rata reală de infectare într-o ţară precum Mexicul, unde oamenii nu merg la medic doar cu febră. Rata de deces a fost de 5% şi nu de 50% din persoanele infectate, nu mai mult decât într-o epidemie sezonieră normală, astfel încât alarma a fost una falsă. Cu toate acestea, a fost vorba de o adevărată pandemie din cauza numărului mare de ţări afectate. Măsurile de siguranţă au fost deja luate rapid şi a fost iniţiată producţia unui vaccin, dar a venit prea târziu pentru lumea occidentală; valul de infecţii se stabilizase deja. Oamenii din emisfera sudică nici măcar nu au dorit vaccinul gratuit. Nimeni de acolo nu a luat gripa porcină în serios. Eu m-am infectat în China, probabil într-un internet cafe din Shanghai. M-am simţit destul de rău acasă şi mi-am anulat zborul de la Berlin la Zurich de teamă că aş putea infecta pe cineva şi astfel să ajung pe prima pagină a ziarelor ca profesor de virologie care răspândeşte virusul. Am avut într-adevăr gripă porcină, după cum a verificat propriul meu departament de diagnosticare.

Virusurile gripale responsabile de gripa aviară au devenit periculoase doar prin manipularea în laborator de către oamenii de ştiinţă. Cercetătorii au trecut de la un virus exclusiv aviar la un virus infecţios pentru oameni. Mutaţiile necesare au fost chiar introduse în secvenţa virală de două ori, în două laboratoare independente din SUA şi Olanda. De ce efectuează oamenii de ştiinţă astfel de experimente riscante? Această întrebare a fost ridicată doar atunci când oamenii de ştiinţă au fost suficient de naivi pentru a-şi publica studiile. Abia atunci organizaţiile de finanţare a cercetării au început să tragă un semnal de alarmă. O pauză obligatorie, un moratoriu de 6 luni, a fost impusă studiilor şi publicării lor. Aceasta a durat mai mult decât era prevăzut, iar interdicţia de publicare a fost apoi atenuată: detaliile trebuiau omise, astfel încât nu oricine să poată repeta experimentul şi să transforme un virus relativ inofensiv într-unul periculos.

Un moratoriu cu auto-restricţii a mai avut loc o dată, cu limitări privind utilizarea tehnologiilor ADN recombinant - construirea de noi gene prin combinaţii de fragmente de gene - la conferinţa Asilomar din 1975, precum şi restricţii privind terapia genică a bolilor umane cu ajutorul virusilor împotriva cancerului. Chiar şi astăzi, virusii nu au voie să se reproducă atunci când sunt aplicaţi în scopuri terapeutice, pentru a preveni posibilitatea ca virusii care se reproduc să infecteze celulele germinale ale unui pacient, ceea ce, la rândul său, ar deschide posibilitatea ca virusul să poată fi apoi transmis generaţiei următoare. Această restricţie este strict respectată şi acceptată. În consecinţă, terapia genică este sigură, dar este şi ineficientă din exact acelaşi motiv. Ea ar fi mult mai eficientă dacă ar fi permisă replicarea virusului. În prezent, se urmăresc alte abordări.

Interdicţia studiilor privind virusurile gripale poate fi rezumată astfel: „fără dublă utilizare", ceea ce înseamnă că publicaţiile nu au voie să servească două scopuri potenţiale, cele ştiinţifice şi, de asemenea, interesele bioteroriste sau alte abuzuri. Rezultatele privind virusurile gripale manipulate au fost publicate prin omiterea detaliilor tehnice, iar acestea nu au fost lipsite de importanţă, deoarece au arătat că patru mutaţii din 13 500 de nucleotide au fost suficiente pentru ca virusul să devină „umanizat", să fie transmis de la om la om. Aceasta este întotdeauna principala ameninţare. În mod surprinzător, anumite tulpini de gripă poartă deja trei din cele patru mutaţii - deci suntem la o singură mutaţie distanţă de un virus periculos în mediul natural. Pericolul este real şi, prin urmare, a fost instalat un sistem de supraveghere la nivel mondial, studiul *Sentinella* al focarelor locale de gripă. În urma acestui studiu, se prezic tulpinile anuale de gripă, ca bază pentru producerea vaccinurilor pentru iarna următoare. Vaccinurile sunt încă adesea produse în ouă de

găină, un ou per doză, ceea ce necesită miliarde de ouă „fără agenți patogeni speciali” (SPF). În esență, există doar două medicamente împotriva gripei, foarte puține în comparație cu HIV: *Tamiflu* și *Relenza*. *Tamiflu* a devenit un *blockbuster* și a fost vândut guvernelor panicate din întreaga lume. Acesta este acum stocat în multe depozite și așteaptă să fie *alicotat* atunci când este nevoie. Există o lege destul de ciudată conform căreia doar ziua *aliquotării* servește drept bază pentru calcularea datei de expirare a medicamentului. În Scandinavia au apărut deja viruși rezistenți, iar în Japonia *Tamiflu* pare să conducă la creșterea ratei sinuciderilor în rândul tinerilor. Gripa nu trebuie subestimată. Eu am luat-o, nu doar o răceală de vreun rinovirus, și am fost atât de bolnavă și semi-conștientă încât nici nu mi-am amintit că aveam *Tamiflu* în frigider exact pentru această posibilitate. Este eficient doar dacă este luat la scurt timp după infecție, din motive simple, pentru că atunci încărcătura de virus este încă mică. Apropo, batistele de hârtie nu ar trebui aruncate în coșul de hârtii de lângă birou, ci într-un coș cu capac, și chiar și o secretară de neînlocuit ar trebui să stea acasă în loc să răspândească virusul la serviciu.

Există un amplu sistem de monitorizare a virușilor, *Global Viral Forecasting Initiative* (globalviral.org). *Google* participă, de asemenea, la previziuni, într-un mod surprinzător: se presupune că utilizatorii internetului caută „gripă” pe Google mai frecvent dacă aceasta se răspândește, „*Google Flu Trends*” a prezis în mod fiabil sosirea valurilor de gripă pentru mai mult de 100 de orașe din SUA, cu săptămâni în avans. Foarte inteligent!

Virusurile Ebola au fost considerate, teoretic, pentru o lungă perioadă de timp un potențial pericol. Cu toate acestea, în cele 24 de focare apărute între 1976 și 2013, acesta nu a devenit niciodată epidemic, cu aproximativ 1 500 de cazuri mortale în total. Focarele au rămas locale și mici în Africa de Vest. Cu toate acestea, au fost suficient de înspăimântătoare pentru ca oamenii să fugă, uneori chiar și lucrătorii din domeniul sănătății, care sunt cei mai expuși riscului, deoarece aproape fiecare al doilea pacient moare din cauza hemoragiilor, sângerărilor interne. Se credea că oamenii se îmbolnăvesc atât de cumplit, încât răspândirea ar fi imposibilă. Acest lucru s-a schimbat în 2015. Mobilitatea a crescut, iar piețele, școlile și alte aglomerări au contribuit mai mult decât înainte. Epidemia s-a răspândit în trei țări - Guineea, Sierra Leone și Liberia - cu 11.000 de decese raportate din aproape 30.000 de cazuri. Există o lipsă de spitale, iar familiile sunt folosite pentru a îngriji pacienții, expunându-se astfel la boală. Tradițiile funerare, cu cadavre și fluide corporale foarte infecțioase, au fost întotdeauna acuzate ca fiind o sursă majoră de contaminare, dar este posibil ca acest lucru să se fi schimbat între timp prin educarea oamenilor. Nu există nicio terapie, cu excepția furnizării de fluide prin perfuzii, care necesită însă ace sterile. În timpul carantinei, care poate dura până la 30 de zile pentru ca infecția să se manifeste, oamenii se temeau să nu atragă boala acolo. Cei care își revin sunt rezistenți și i-ar putea ajuta pe ceilalți. Chiar și sângele lor a fost testat pentru prezența anticorpilor potențial protectori. Acum se investighează vaccinuri care erau disponibile în instituțiile de cercetare, dar prea scumpe pentru a fi dezvoltate - cu excepția unor noi presiuni. Virusul este răspândit de lilieci și de carnea de animale sălbatice, purtătorii neavând boala. Animalele purtătoare cuprind, de asemenea, câini, porci și poate rozătoare, care pot fi găsite în multe locuri din întreaga lume și pot fi infecțioase. Endogenizarea secvențelor Ebola s-a dovedit a fi o proprietate caracteristică a purtătorilor sănătoși și a potențialilor transmițători. Endogenizarea înseamnă prezența secvențelor virale în genomul animalelor (a se vedea mai jos).

Neașteptată a fost observația că virusurile Ebola se pot ascunde în rezervoare precum creierul uman și pot provoca encefalită severă la câteva luni după recuperarea unui pacient. Acest lucru a fost observat pentru prima dată în cazul unei asistente medicale despre care se credea că a supraviețuit Ebola, dar care s-a îmbolnăvit 6 luni mai târziu cu viruși în creier. Virușii pot persista timp de patru luni și în sperma bărbaților care s-au recuperat. Vaccinul nou dezvoltat ar putea deveni important în viitor.

Germania are o anumită tradiție cu Ebola, deoarece acesta este o rudă apropiată a virusului bolii Marburg. Compania Behring - aflată în apropiere de Marburg, Germania - s-a confruntat cu unele cazuri de transmitere a virusului către deținătorii de animale de către maimuțele importate în anii 1960. Aproximativ 30 de persoane au fost infectate și o treime dintre acestea au murit. Apoi, 40 de ani mai târziu, prezentatorul de televiziune Gunther Jauch a invitat supraviețuitori și specialiști

științifici să participe la un talk-show. În primul rând, a trebuit să învățăm să aplaudăm tare, și suficient de mult, atunci când gazda intra în scenă. Apoi, există întotdeauna discuția despre bioterorism cu acest virus; cu toate acestea, deoarece nimeni nu are încă o protecție sau un leac, acest lucru ar fi periculos pentru teroriștii înșiși și nu atractiv pentru bioterorism. Pe baza tradiției de la Marburg, există acum un laborator de siguranță la cel mai înalt nivel de biosecuritate (BSL4) pentru universitățile Marburg și Giessen. De asemenea, Institutul Robert Koch din Berlin a deschis un nou laborator de înaltă securitate în 2015. Există doar o jumătate de duzină de astfel de laboratoare în întreaga Europă. Prin urmare, Germania are o mare șansă de a contribui la cunoașterea noilor agenți patogeni și boli periculoase emergente. Se știe că virușii rareori dispar complet, prin urmare este posibil să trebuiască să fim conștienți de „revenirea" virușilor.

SARS (sindromul respirator acut sever) este o boală care necesită, de asemenea, laboratoare care lucrează la cel mai înalt nivel de siguranță. În Hong Kong, coronavirusul, care provoacă SARS, a scăpat de mai multe ori dintr-un institut de cercetare. Cel mai surprinzător a fost comunicatul de presă din 2014 conform căruia treizeci de containere cu probe de SARS au dispărut din rezervorul de azot lichid, locul de depozitare a probelor în laboratorul de siguranță din Paris. Acestea nu au fost declarate ca atare din motive de siguranță, astfel încât nimeni să nu știe despre conținutul periculos. Cred că s-a întâmplat că cineva pur și simplu avea nevoie de spațiu în rezervor și l-a curățat. Rezervoarele sunt cunoscute pentru faptul că sunt mereu pline și, adesea, eșantioane vechi reapar, la ani de zile după ce au fost puse acolo. Uneori, acest lucru deschide noi domenii de cercetare, ca în cazul unui retrovirus cu un nou oncogen **Jun**. Chiar și în frigiderul sălii de seminar, pe care l-am curățat singură odată, am descoperit un vas de margarină care supraviețuise acolo neobservat timp de șapte ani, în ciuda utilizării zilnice a locului. Probabil că probele de la Paris au ajuns în siguranță în sterilizatorul cu aburi, conform regulilor, dar au fost pierdute în scopuri de cercetare. Chiar și în laboratoarele mele de siguranță din Zurich am descoperit o gaură în perete - care nu era chiar periculoasă din cauza presiunii scăzute din încăpere și a dulapurilor sterile - dar totuși, ce surpriză stânjenitoare.

Într-o noapte târzie, o asistentă medicală a venit la biroul meu din Zurich, cu brațele pline de tuburi de prelevare. Un pilot din Filipine, posibil bolnav de SARS, era staționat în spital. Acest lucru a tras un semnal de alarmă. Mai întâi am sunat un coleg de la Institutul de Medicină Tropicală din Hamburg pentru sfaturi. A trebuit să aștept, până când s-a întors pe la miezul nopții de la o emisiune TV despre SARS. Mi-a dictat apoi o listă de reactivi, dintre care unii deveniseră disponibili în acea săptămână la Berlin, *primeri* pentru un test de laborator sensibil (o reacție în lanț a polimerazei, PCR, pe care o voi explica mai jos). M-am gândit că ar dura prea mult pentru un pacient cu risc ridicat. Am sugerat să zbor la Hamburg cu probele și să le analizez acolo. Transportul a fost posibil, chiar și fără ca eu să însoțesc probele, prin World Courier. Aproximativ zece containere au trebuit să fie împachetate unul în jurul celuilalt ca o păpușă rusească. Curierul pe bicicletă pentru aeroport aștepta deja, când a mai rămas un singur container. L-am lăsat pe furiș să dispară în buzunarul halatului meu de laborator, pentru a nu mai întârzia. Seara, Institutul din Hamburg a dat undă verde și m-a informat că rezultatul a fost negativ, ceea ce a fost o mare ușurare și pentru personalul medical de la spital. Un pacient cu SARS a ajuns la Frankfurt, în Germania, și a fost pus în carantină și tratat cu succes - și s-a recuperat fără să provoace o epidemie locală precum în Canada sau Singapore.

Au fost luate cu succes măsuri paramilitare, cum ar fi raportarea zilnică a temperaturii corporale a angajaților. Organizația Mondială a Sănătății a fost foarte atentă și utilă în gestionarea focarelor periculoase din întreaga lume, prin emiterea de rapoarte frecvente și sfaturi zilnice. Din nou, liliecii au fost rezervoarele virusului, ca și în cazul Ebola. Liliecii trăiesc în colonii cu densități mari de populație și transmit virușii fără să se îmbolnăvească ei înșiși - la fel ca supraviețuitorii rezistenți - cei care s-au îmbolnăvit au sucombat. Unii oameni spun că liliecii ar putea avea sisteme imunitare diferite, în special un nivel de interferon mult mai ridicat, prin urmare se îmbolnăvesc mai rar. Între timp, au fost dezvoltate terapii împotriva SARS: inhibitori ai *proteazei* sale. O abordare similară a avut succes și împotriva HIV. Între timp, în Emiratele Arabe Unite, a apărut un nou focar de SARS, care a ucis un șeic și pe fiul său și, ulterior, alte persoane. Cel mai probabil, virusul este

transmis de cămile. Virusul a fost izolat la Centrul Medical Erasmus din Rotterdam. Locul de izolare este în mod normal utilizat pentru a inventa numele unui izolat, astfel încât, în acest caz, acesta a fost numit inițial EMC-virus, dar acum este cunoscut sub numele de sindrom respirator din Orientul Mijlociu, MERS-coronavirus. Ratele de infectare sunt în creștere.

Un scurt episod a fost experimentat în Coreea în 2015 într-un spital - și a fost răspândit prin intermediul membrilor familiei, deoarece aceștia au grijă de pacienți, în timp ce asistentele medicale ca atare nu există. Virusul a fost rapid ținut sub control. Vă rugăm să rețineți că SARS a fost controlat prin măsuri de igienă foarte de modă veche și acțiuni paramilitare, nu printr-un vaccin sau terapii sofisticate.

Într-o zi, colegul meu Alex a venit în biroul meu: „Sunt atât de bolnav încât sunt pe moarte". Mi-am amintit imagini cu rujeola din manualele de virologie (nu sunt medic) și am diagnosticat rujeolă. Alex tocmai se întorsese din Ucraina, de la aniversarea bunicii sale, unde internetul indica o epidemie de rujeolă. Incertitudinile politice împiedicaseră vaccinarea unei întregi generații de oameni. Toată lumea din Institutul din Zurich a fost testată pentru depistarea anticorpilor împotriva rujeolei și a fost vaccinată imediat dacă era necesar; adică nu prea târziu. Alex nu a mers la spital așa cum i s-a spus, ci a luat tramvaiul și a infectat un copil. Din fericire, amândoi s-au recuperat. Chiar și un medic pentru copii a infectat recent copiii din cabinetul său cu rujeolă pentru că nu fusese niciodată vaccinat. Acest lucru a ridicat o dezbatere cu privire la vaccinarea obligatorie a unei astfel de profesii. 1,7 milioane de persoane mor în fiecare an din cauza rujeolei. Mulți părinți refuză vaccinarea de teama efectelor secundare (s-a susținut că autismul ar fi un astfel de efect secundar, dar în mod fals). Rujeola este deosebit de periculoasă pentru adulți, encefalita fiind o potențială complicație. Rujeola a scris istorie și a depopulat insule; a contribuit la declinul mayașilor, a influențat rezultatul bătăliilor lui Charlemagne și a accelerat sfârșitul Imperiului Roman. Rujeola poate afecta și animalele. Unii oameni își pot aminti de dispariția a numeroase foci din Marea Nordului.

Teama de vaccinarea împotriva rujeolei ne învață o lecție - vaccinarea se bazează pe încredere, educație și informații corecte. Interesul pentru vaccinare a scăzut vertiginos atunci când s-a răspândit informația că serviciile secrete americane au desfășurat o falsă campanie de vaccinare prin recoltarea de probe de sânge într-o zonă rurală din Pakistan pentru a descoperi ascunzătoarea lui Osama bin Laden. Acest lucru a dus la creșterea ratei de refuz a vaccinurilor timp de mai mulți ani.

Norovirusurile nu sunt foarte periculoase, dar sunt extrem de contagioase. Câteva particule de virus sunt suficiente pentru a provoca o infecție. Nava de croazieră de televiziune „Deutschland" a fost prima navă care a fost afectată de norovirusuri în anii 1990.

Are sediul în Neustadt, pe Marea Baltică, orașul copilăriei mele. Ziarele au speculat cu privire la cauză, steagul galben și negru de carantină a fost arborat și nimeni nu a fost lăsat să părăsească sau să intre pe navă. Șeful departamentului meu de diagnosticare din Zurich, pe care l-am sunat, a dat imediat răspunsul corect: norovirusuri. Acestea contaminau apa potabilă care fusese luată la bord. Aceasta este o amenințare, deoarece se poate întâmpla pe orice navă de croazieră și poate provoca decese în rândul pasagerilor în vârstă sau slabi. Fiecare echipaj trebuie acum să învețe cum să facă față acestei situații - izolarea completă a pasagerilor infectați! Un spital din apropiere de Zurich a trebuit să fie închis timp de mai multe zile. Iar un tren de noapte a fost izolat noaptea în Frankfurt din cauza elevilor infectați. Probabil că ar trebui să evit pe viitor cabinele cu șase paturi din acest tren, deși, de fapt, încă le folosesc.

Și ce se întâmplă cu căpușele? Dacă medicul nu știe ce să spună, poate fi nevoit să fie informat dacă ați fost mușcat de o căpușă. Ar trebui să salvați insecta, dacă puteți, în scopul diagnosticării. Este posibil să fi transmis o bacterie, *Borrelia burgdorferi*, care provoacă boala Lyme - sau un virus, virusul „encefalitei transmise de căpușe" (TBEV). Bacteria poate fi tratată cu antibiotice, dar TBEV nu poate fi tratată deloc. Aceasta poate fi diagnosticată cu ajutorul microbilor. O mușcătură este uneori, dar nu întotdeauna, vizibilă printr-un halou roșu în mișcare pe piele. La Princeton toată lumea știa și vorbea despre acest risc. Într-o zi, celebrul John Hopfield - cunoscut pentru rețeaua neuronală artificială Hopfield - s-a prefăcut că pare nebun și a subliniat că

căprioarele din grădina sa au foarte des căpuşe şi l-ar putea face să arate aşa. El a luat antibiotice doar pentru a fi în siguranţă după o muşcătură. Trebuie să ne amintim acest lucru dacă nu putem explica cauza unei dureri de cap grave. Apropo: pentru o vacanţă de vară în Austria, vaccinarea împotriva căpuşelor este obligatorie şi trebuie făcută cu mult timp înainte. Virusologul lor şef este un specialist în căpuşe - trebuie să ştie!

Virusii noi adesea nu sunt noi, dar sunt mai uşor de diagnosticat sau apar în locuri neaşteptate. Într-o zi, ciorile au căzut din cer deasupra oraşului New York. În doar câţiva ani, un nou virus a cucerit întreaga SUA, virusul *West Nile* (WNV). După cum indică numele său, acesta nu a venit din New York, ci probabil cu avionul din Israel. Ţânţarii sunt infectaţi de păsări şi pot induce encefalită la om. Călătoria cu avionul este cea mai rapidă cale de răspândire a virusurilor. În 24 de ore, virusii pot face înconjurul lumii într-un avion, adesea ascunşi în sistemul de aer condiţionat.

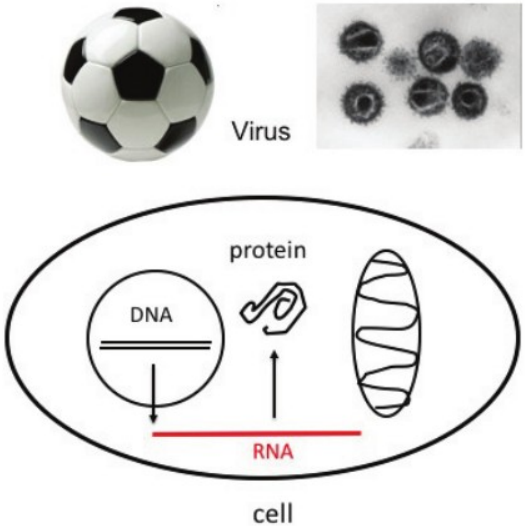
Publicul obişnuia să se plângă dacă autorităţile sanitare nu luau măsuri de precauţie sau acţiuni suficient de rapide. Cu toţii trebuie să învăţăm că există virusuri nou apărute, care ne iau prin surprindere. Virusul Zika este unul dintre acestea de care nu auzisem niciodată până la începutul anului 2016. A fost timp de decenii un virus local al maimuţelor din Uganda, pădurea „Zika", iar apoi s-a răspândit în peste 32 de ţări în 2016, astfel încât OMS a anunţat o „urgenţă de sănătate globală". Virusul poate provoca o microcefalie la nou-născuţii din Brasilia şi infecţii cerebrale şi poate fi transmis pe cale sexuală. Din nou, cei mai săraci sunt cei mai afectaţi. Două tipuri de ţânţari (*Aedes aegypti*, care transmite şi malaria şi este numit ţânţarul febrei galbene, şi *Aedes albopictus*, ţânţarul tigru) pot transmite virusul, care este similar virusului febrei *dengue* şi virusului febrei galbene. Ţânţarii trebuie eliminaţi cu insecticide sau infectaţi cu bacterii, astfel încât virusul să fie blocat, sau făcuţi sterili, astfel încât nicio femelă nouă să nu producă insecte progenituri - toate foarte dificil de realizat. Ţânţarii tigru au ajuns în ţările din sudul Europei. Aceştia pot rezista la temperaturi scăzute şi se înmulţesc în bălţile de apă. Acesta este un nou focar - dar nu va fi ultimul.

HIV ca exemplu

Într-o dimineaţă devreme, acum aproximativ treizeci de ani, în timpul vacanţei mele de vară în Provence, Franţa, am încercat să o contactez pe colega mea Jutta din Berlin. „Jutta, într-un ziar se raportează accidente şi moartea unui tehnician care lucra cu HIV în laboratoarele din SUA. Nu mai lucraţi cu HIV, aruncaţi totul direct în autoclava cu aburi şi omorâţi imediat toate probele de virus - acest lucru poate pune viaţa în pericol". Ea nu a vrut! „Nu pot să termin mai întâi experimentul? Voi fi atentă!" Aceasta a fost reacţia tipică a unui om de ştiinţă. Îmi amintesc că, atunci când ne-am uitat la un preparat de virus HIV într-un tub de centrifugare, acesta era tulbure, de la toţi virusii pe care îi crescusem în laborator. Ne jucam cu viaţa noastră fără să ştim. Odată i-am dat o mostră de virus stewardesei în timpul unui zbor peste mări pentru a o pune în frigider, lângă mâncarea pentru pasageri - era într-un tub cu capac şi nu era niciun pericol.... Totuşi! Jutta a efectuat chiar şi un test HIV în laborator pentru un coleg de muncă, pentru a determina statutul său HIV. Ce s-ar fi întâmplat dacă ar fi fost pozitiv? A fi HIV pozitiv era o condamnare la moarte în acele zile.

Bolile infecţioase sunt, la nivel mondial, cea mai frecventă cauză de deces. În Germania, 60 000 de persoane, iar la nivel mondial, 80 de milioane de persoane mor anual din cauza bolilor infecţioase. HIV contribuie cu 2 milioane de cazuri de deces pe an. Un număr similar de persoane devin nou infectate. Prin comparaţie, 8,2 milioane de oameni mor anual de cancer la nivel mondial. La sfârşitul anilor 1970, se credea că bolile infecţioase sunt ţinute sub control de antibiotice. Acest optimism a dispărut odată cu apariţia HIV/SIDA şi s-a transformat în teamă şi pesimism. A apărut chiar panica, aşa cum s-a raportat în timpul cumplitei ciume a lui Iustinian în Imperiul Roman de Răsărit, în jurul anului 541. Pentru HIV totul era necunoscut: răspândirea, căile de infectare, diagnosticul şi evoluţia bolii. A fost o coincidenţă norocoasă faptul că exact în acea perioadă deveneau disponibile tehnologii noi pentru înţelegerea bolilor: biologia moleculară şi tehnologia genetică. Era clonării moleculare, recombinării fragmentelor de ADN ale genelor, reacţia în lanţ a *polimerazei* (PCR) foarte sensibilă pentru detectarea unor cantităţi foarte mici de material genetic

prin amplificare în eprubetă au devenit disponibile. Toate acestea erau gata să intre în cercetare şi au dus la una dintre cele mai incredibile poveşti de succes ale medicinei, aşa cum nu s-a mai întâmplat până atunci. Singurul element care mai lipseşte astăzi este un vaccin. Aceasta este concluzia după 35 de ani de cercetare intensivă. Virusul a fost secvenţiat aproape în cel mai scurt timp; s-a putut creşte şi amplifica producţia de virus în laborator, ceea ce a permis cercetătorilor şi companiilor farmaceutice să depisteze medicamente şi să dezvolte teste de diagnostic fiabile şi metode de depistare a aprovizionării cu sânge. Între timp, mai mult de 30 de medicamente au fost aprobate pentru terapia anti-HIV. Recent, a devenit disponibil un test de diagnostic rapid pentru testarea statutului HIV al unui potenţial partener sexual înainte de a intra într-o saună masculină; este rapid, deşi nu complet fiabil. Autotestarea duce la scăderea numărului de infecţii. În prezent, nimeni nu ar trebui să moară de SIDA în lumea occidentală, cu o asigurare de sănătate care să acopere cheltuielile pentru terapii - care se ridică încă la aproximativ 20 000 de dolari pe an. Provocarea este sprijinirea celor săraci, chiar şi în ţările bogate. Abordarea de suprimare a infecţiilor HIV multirezistente cu trei medicamente, „HAART” (terapie antiretrovirală foarte activă), „tripla terapie” a devenit un concept pentru alte boli infecţioase şi, de asemenea, pentru cancer - dacă există suficiente medicamente disponibile. Infecţia cu HIV permite apoi pacientului să ducă o viaţă aproape normală, cu o speranţă de viaţă similară cu cea a unei persoane neinfectate, adică aproximativ 75 de ani în lumea occidentală. În lumea a treia, durata de supravieţuire este de aproximativ 11 ani după diagnostic, adesea doar cu o terapie dublă (ART, terapie antiretrovirală) şi cu începerea tardivă a tratamentului. În lumea occidentală se poate duce o viaţă de familie normală, născându-se copii neinfectaţi. „Terapia ca prevenire” este *motto*-ul, indicând faptul că nu ar trebui să apară nicio infecţie dacă un pacient aderă strict la regimul terapeutic. Profilaxia pre-expunere (PrEP) şi profilaxia post-expunere (PEP) au fost lansate în 2012 şi s-au bucurat de mare succes, ducând la o „aproape vindecare”. În funcţie de medicamente, „pastila de a doua zi” trebuie luată în câteva ore sau într-o zi. Astfel, persoanele sănătoase pot rămâne sănătoase, în timp ce terapia persoanelor infectate este în acelaşi timp o profilaxie pentru partenerii neinfectaţi. Aceasta ar putea fi cea mai bună soluţie pe care o vom avea pentru o lungă perioadă de timp, până când un vaccin (poate) va deveni disponibil într-o zi. Eliminarea completă a virusului din corpul unei persoane, o vindecare, nu este încă posibilă, dar este un nou obiectiv ambiţios. Virusul se modifică şi persistă în rezervoare unde este inaccesibil terapiilor. Cu toate acestea, încărcătura virală (VL) este redusă prin tripla terapie de la un miliard de particule la aproximativ 20 pe mililitru de sânge. Aceasta este limita de detecţie în diagnosticele bazate pe metoda extrem de sensibilă de amplificare genică PCR menţionată anterior.



Sus: Fotbalul şi retrovirusurile sunt icosaedre. Retroviruşii pot provoca SIDA prin suprimarea imunităţii, dar odată au construit placenta umană, astfel încât să nu avem nevoie să depunem ouă.
Jos: Celulă cu nucleu şi mitocondrie (fostă bacterie), ADN-ul este genomul, ARN-ul este mesagerul pentru sinteza proteinelor.

Această reducere dramatică a încărcăturii virale a ridicat întrebarea dacă o persoană tratată cu succes nu ar mai fi deloc infecțioasă. Acest lucru ar însemna că nu ar mai fi necesare măsuri de precauție în timpul actului sexual - așa s-a argumentat. Interesant este faptul că această problemă a fost discutată mai întâi în Elveția, unde oamenii sunt mai preocupați de siguranță decât în orice altă țară. Propunerea a declanșat o dezbatere la nivel mondial, dar a fost acceptată în cele din urmă. În consecință, nu ar mai trebui să se informeze partenerul cu privire la statutul său, la propria infecție cu HIV. Dar aderența și complianța pacienților sunt condiții prealabile stricte - și factori limitativi severi.

35 de ani de cercetare în domeniul HIV au fost sărbătoriți în 2013 cu un simpozion la Institutul Pasteur din Paris. Frangoise Barre-Sinoussi, laureată a premiului Nobel pentru descoperirea HIV, a invitat acolo cercetători din întreaga lume. Un remarcabil neparticipant la reuniune a fost Luc Montagnier, șeful departamentului unde a fost făcută descoperirea, care a împărțit premiul Nobel (2008). A fost interesant să aflăm că, între timp, Montagnier a abandonat complet cercetarea și terapeutica bazată pe dovezi împotriva infecțiilor cu HIV și și-a îndreptat interesul către „medicina alternativă” cu extracte naturale de plante. Acest lucru nu este general acceptat.

Prima micrografie electronică a virusului a fost prezentată din nou, un diapozitiv istoric. Deja în imaginea inițială se putea vedea că virusul își modifică structurile interne datorită acțiunii *proteazei* virale: virusul se maturizează după ce a părăsit celula. Această etapă este împiedicată de inhibitorii de protează - se poate vedea efectul medicamentului. Virusul imatur nu mai este infecțios. Această imagine de microscop electronic a avut o importanță istorică, deoarece Robert C. Gallo, pe atunci la Institutul Național de Sănătate din Bethesda, a publicat-o ca imagine proprie. Frangoise mi-a arătat cele două fotografii de pe tabloul ei. Protestele comunității științifice au dus în cele din urmă la declarația că a existat o greșeală, imaginile au fost confundate, cea „greșită” a fost publicată din greșeală. Unii colaboratori au emigrat apoi în alte țări. Jurnaliștii, însă, nu au vrut să renunțe. Gallo primise virusul de la Luc Montagnier, care dăduse cu generozitate mostre din el altor cercetători. Dintr-un amestec de virusuri pregătit în laboratorul lui Gallo a apărut un candidat viral, care s-a dovedit a fi izolatul lui Montgnier. În mod normal, virusologii nu amestecă izolatele virale - dimpotrivă, ei izolează clone individuale - însă amestecul și mascarea este ceea ce s-a întâmplat. Guvernele francez și american au ajuns în cele din urmă la un compromis conform căruia ambele părți vor împărți redevențele de brevet. La urma urmei, Gallo identificase un factor de creștere foarte important (numit interleukină IL-2), care permitea propagarea virusului în culturi celulare, o contribuție importantă la dezvoltarea unui test de diagnostic. Numai HIV are o rată de mutație atât de rapidă încât nu există două izolate de virus identice în lume. O serie de mutații punctiforme, care erau diferite în „izolatul virusului Gallo”, au stat la baza apărării avocaților, dar nu au dovedit existența unui izolat independent. Timp de zece ani, Gallo a fost atacat. Acest lucru l-a costat premiul Nobel, în ciuda a trei articole excelente publicate în revista *Science* la scurt timp după descoperirea virusului. În plus, Gallo a descoperit virusul leucemiei umane cu celule T, HTLV-1, care este endemic în Japonia și care nu este înrudit cu HIV decât în mică măsură. Un prieten al lui Gallo l-a descris ca pe un jucător de fotbal: pierzi - ok - mai încearcă o dată. Așa că Gallo a venit la sărbătoarea de la Paris. Spectacolul trebuie să continue. Toți participanții la reuniunea sa anuală de la Institutul de Virusologie Umană (IHV) din Baltimore au sărbătorit o „petrecere aproape de premiul Nobel” cu o doamnă Kennedy ca manager al evenimentului. Participanții au plătit.

Au fost realizate suficiente progrese în terapie? Este interesant faptul că noi medicamente par să fie încă necesare, chiar dacă nu există un singur virus sau o singură boală împotriva căreia să avem atât de multe pastile diferite. Cele mai de succes s-au dovedit a fi inhibitorii de *integrază*, dezvoltați destul de târziu. Un nou medicament din 2015 împiedică eliberarea virusului din celulele gazdă - nu replicarea, așa cum o împiedică majoritatea celorlalte medicamente. O abordare foarte neobișnuită este aceea de a convinge virusul să părăsească rezervorul său ascuns la care niciun medicament nu poate ajunge. Strigătul de luptă este „purjați virusul” sau „șocați și ucideți” virusul, mai întâi pentru a produce mai mulți viruși și apoi pentru a-i trata pe toți. Înrăutățirea infecției înainte de ameliorarea ei - sună puțin riscant.

Datorită angajamentului lui Bill Clinton, preţul pastilelor a scăzut semnificativ în Africa, până la câteva sute de dolari pe an. Totuşi, acest lucru are ca efect secundar faptul că industria farmaceutică nu este entuziasmată de dezvoltarea de noi medicamente. Pilulele din Africa, puternic subvenţionate, au fost contrabandă în alte ţări, subminând astfel pieţele farmaceutice ale acestora. În prezent, pastilele au două culori, albastru deschis şi albastru închis, în funcţie de originea lor, pentru a putea fi urmărite până la sursă. Sunt la fel de bune? Nu ştiu.

Există încă probleme legate de rezistenţa virusului la pacienţii supuşi terapiei. Virusul conţine 10 000 de nucleotide, iar acestea suferă mutaţii - aproximativ 10 mutaţii per ciclu de replicare în aproximativ 24 de ore. *Transcriptaza inversă*, enzima de replicare a virusului care transcrie ARN-ul viral în ADN dublu-catenar, este foarte predispusă la erori. Prin urmare, mulţi mutanţi se acumulează şi astfel evită tratamentul. În pacient există întotdeauna un roi de viruşi diferiţi, descris drept cvasi-specie. Toţi membrii acestui roi sunt înrudiţi, dar nu identici. Unii viruşi sunt mutanţi, scăpând de un tratament şi necesitând, prin urmare, un alt tratament, adesea o combinaţie diferită de medicamente. Dacă se înlocuieşte o schemă de tratament cu alta, virusul iniţial poate creşte destul de repede, în câteva săptămâni, ceea ce a fost surprinzător pentru oamenii de ştiinţă atunci când a fost observat pentru prima dată. O triplă terapie este utilizată în lumea occidentală, o terapie cvadruplă într-o singură pastilă este deja în curs de apariţie, iar o injecţie care ar trebui să dureze trei luni este în curs de pregătire şi testare iniţială. Volumul care trebuie injectat este încă destul de mare (4 mililitri) şi doare un pic.

Care este situaţia în lume? Este atât de bună pe cât sugerează rezultatele cercetării? 37 de milioane de persoane sunt seropozitive, 21 de milioane sunt diagnosticate ca fiind infectate, se estimează că se produc 2 milioane de noi infecţii pe an (cifre pentru 2013). UNAIDS, o organizaţie a ONU axată pe SIDA, publică în mod regulat aceste cifre. 1,5 milioane de persoane au murit de SIDA în 2013, cu o zecime mai puţine decât cu 10 ani înainte. 15 milioane de persoane cu HIV primeau un tratament, 22 de milioane de pacienţi încă aşteaptă. Tratamentul care reduce încărcătura virală, VL la un nivel nedetectabil de scăzut înseamnă că persoana nu mai este infecţioasă şi nu răspândeşte virusul. În SUA, acest lucru se întâmplă la 30% dintre persoane, în Elveţia şi Marea Britanie la aproximativ 60%, iar în Rusia la 11%. Aproape un sfert din persoanele nou infectate sunt femei cu vârste cuprinse între 15 şi 24 de ani. În Africa, acestea nu au nicio şansă de a-şi îmbunătăţi nivelul de trai, iar tinerele femei devin prostituate ale „*sugar daddies*”. Dar epidemia nu se va opri dacă acest lucru continuă. Un nou efort a fost iniţiat pentru a menţine fetele la şcoală prin „stimulente în numerar”, oferindu-le bani pentru a preveni prostituţia şi permiţându-le să cumpere telefoanele dorite.

În mod similar, circumcizia masculină este promovată prin plăţi în numerar (12,50 $), care reduc rata infecţiilor de aproximativ două ori. Îmi amintesc când circumcizia a fost propusă pentru prima dată, în urmă cu 30 de ani - suna ca o soluţie de urgenţă şi ca o declaraţie de faliment a tuturor cercetărilor de atunci - şi publicul a izbucnit în râs. Încă se efectuează ca în vremurile biblice.

„Salvaţi copiii” este obiectivul, salvaţi generaţia următoare, după ce aproape o întreagă generaţie a fost deja pierdută în Africa. Niciun nou-născut nu ar trebui să fie infectat. În lumea occidentală, dacă o infecţie apare în timpul naşterii, este considerată o abatere medicală. Transmiterea de la mamă la copil (MTCT) poate fi prevenită dacă femeile însărcinate pot fi contactate prin terapii şi tratate în timpul naşterii. A ajunge la toate este încă o problemă. Ne amintim cu greu de modelul propus de George W. Bush, ABC: Abstinenţă, fidelitate, (utilizare) prezervative. Este cea mai mare provocare pentru lucrătorii din domeniul sănătăţii publice să transpună cunoaşterea în acţiune - acest lucru este destul de dificil de realizat în cazul fumatului sau al mâncării, darămite în cazul actului sexual.

Cel mai rău dintre toate - multe persoane infectate din SUA nu ştiu că sunt infectate. Numărul acestora se ridică la 200 000 din 1,3 milioane. Jumătate din noile infecţii pot fi atribuite acestui fapt. Din păcate, persoanele nou infectate sunt în special foarte infecţioase. O nouă strategie convingătoare este aceea de a trata cât mai devreme posibil - dar trebuie să ştiţi! O altă problemă gravă este lipsa de complianţă. Aproximativ jumătate dintre persoanele care primesc terapii nu le

iau în mod regulat şi rămân infectate. Este nevoie de educaţie, deoarece aceasta are un efect protector puternic împotriva infecţiilor cu HIV.

Până în 2020, speranţa este descrisă printr-o regulă empirică, „90:90:90”, ceea ce înseamnă: 90% dintre persoanele infectate ar trebui să fie diagnosticate, 90% dintre acestea ar trebui să beneficieze de terapie antiretrovirală, iar 90% ar trebui să aibă o încărcătură virală detectabilă, VL, ceea ce înseamnă că aproximativ 72% sunt tratate cu succes. Atunci nu ar mai avea loc nicio infectare a partenerilor, iar pandemia ar putea fi oprită. Acest lucru a fost deja pus în practică cu succes în unele ţări (Botswana) din Africa în 2016. Obiectivul este ca ARN HIV să devină nedetectabil, datorită tratamentului. Această ambiţie este de a viza încărcătura virală, VL şi de a face ca HIV să devină nedetectabil la toate persoanele care trăiesc cu SIDA. Ar putea atunci SIDA să fie depăşită până în anul 2030? Aceasta este o predicţie. În principiu, ar trebui să fie posibil - este vorba, în principal, de furnizarea de terapii antivirale, de învăţare, de predare, de îmbunătăţirea condiţiilor sanitare şi a sistemelor de asistenţă medicală - şi asta înseamnă bani.

Pacientul din Berlin și copilul din Mississippi - vindecarea HIV?

Un efect terapeutic unic pentru vindecarea unui pacient a fost obţinut la Spitalul Charite din Berlin. Un pacient cu HIV şi limfom urma să primească un transplant de măduvă osoasă împotriva limfomului. Pentru aceasta, a fost selectat un donator special, unul care era în mod natural rezistent la HIV. Speranţa era ca „pacientul din Berlin” să devină şi el rezistent şi să fie vindecat - şi chiar aşa s-a întâmplat. Aproximativ 15% dintre europeni sunt rezistenţi la infecţia cu HIV din cauza unei mutaţii naturale în receptorul de suprafaţă de care virusul are nevoie pentru a intra în celulă. (Receptorul este un receptor chemokinic CCR5, iar mutaţia se numeşte CCR5delta32 deoarece molecula este scurtată cu 32 de aminoacizi). Au fost efectuate unele cercetări cu supravieţuitori ai Morţii Negre, pentru a vedea dacă au supravieţuit datorită exact acestei mutaţii în Evul Mediu. Au fost deschise morminte pentru secvenţierea unora dintre aceşti supravieţuitori - cu toate acestea, speculaţiile par probabil să fi fost nefondate.

Un transplant de măduvă osoasă şi înlocuirea limfocitelor rezistente la HIV a avut succes. Astfel, norocosul supravieţuitor Tom Brown a fost „vindecat funcţional” de zece ani - aceasta este descrierea pentru cineva a cărui încărcătură virală, VL este nedetectabilă, dar poate duce la o remisiune ulterioară. Chiar mai bine ar fi o vindecare „sterilizantă” fără remisiune. Opt repetări ale aceleiaşi proceduri au eşuat ulterior. Repetiţiile pentru pacienţii cu SIDA nu pot fi efectuate cu uşurinţă, deoarece necesită o eliminare aproape completă a sistemului imunitar al pacienţilor - o procedură riscantă. Astfel, acest caz este în cel mai bun caz un model pentru noi abordări terapeutice. Acestea sunt într-adevăr urmărite fie prin blocarea, fie prin eliminarea receptorului CCR5 (prin ARN silenţios), astfel încât virusul să nu poată intra în celulă. Oamenii pot renunţa la receptor şi pot trăi normal fără el.

Un alt caz aproape de vindecare a fost cel al bebeluşului din Mississippi. Acesta a fost tratat imediat după naştere (în termen de 30 de ore), ceea ce se poate face deoarece terapiile nu mai sunt la fel de toxice cum erau. Copilul a fost tratat timp de 19 luni cu ART. Alţi 19 bebeluşi au fost trataţi în acelaşi mod, prin acest aşa-numit control post-tratament (PTC), care controlează virusul. Cu toate acestea, controlul nu este complet, deoarece virusul a revenit după patru ani în cazul Mississippi. Cu toate acestea, un alt copil a fost „vindecat funcţional” timp de mai bine de 12 ani, astfel încât putem spera că virusul rezidual va rămâne sub control întreaga viaţă a persoanei. (*Este necesară o reducere a încărcăturii virale VL de cel puţin cinci loguri (de 100 000 de ori) până la aproximativ 50 de copii virale/ml*).

Noile abordări urmăresc să elimine HIV integrat cu ajutorul unei foarfece moleculare, ceea ce va fi posibil, cu uşurinţă, cu ajutorul unei noi tehnologii cu foarfece moleculare descrise mai jos (CRISPR/Cas9). Acest lucru ar necesita terapie genică *ex vivo* a celulelor selectate, poate vectori virali pentru tratament şi reinfuzie şi o a doua terapie pentru a lupta împotriva „bolii reziduale minime”, celulele rămase, deoarece nicio terapie nu funcţionează 100%. Cine poate plăti pentru acest tip de cercetare şi tratament ulterior - unde? În Africa? Cu toate acestea, chiar a fost înfiinţată

o revistă complet nouă, Cure HIV. O mare publicitate. O altă abordare nouă este activarea virusului în rezervoarele pacienților (printr-un medicament Vorinostat) pentru a-l face accesibil pentru terapii. Acest lucru este testat în cadrul unui studiu numit DARE - un acronim semnificativ, deoarece pare puțin riscant să crească mai întâi numărul de viruși pentru a-i ucide apoi.

În plus, așa-numiții „controlori de elită” sunt studiați pentru a afla ce mecanism poate controla virusul. Aceștia au caracteristici speciale în sistemul lor imunitar (HLA-B57), care pot fi exploatate; această posibilitate este explorată într-un studiu numit VISCONTI (Virology and Immunology Study on CONtrollers after Treatment Interruption). Un mesaj major simplu este: tratați din timp!

Nu există vaccin împotriva HIV?

Care este rezultatul după 30 de ani de dezvoltare a vaccinurilor? Nu există niciun vaccin și, după atâtea promisiuni greșite, nimeni nu mai îndrăznește să facă predicții. Atunci când a fost descoperit HIV, biologii moleculari au presupus că un vaccin ar putea fi produs imediat. Modelul a fost virusul hepatitei B (VHB), unde o moleculă de suprafață induce anticorpi care neutralizează virusul, îi contracarează infectivitatea și îi împiedică replicarea. Prin analogie cu VHB, secvența de înveliș a HIV a fost selectată ca bază pentru dezvoltarea vaccinului, iar secvența a fost cunoscută în câteva luni. ADN-ul proteinei de suprafață a VHB a fost apoi utilizat pentru a produce o proteină în drojdie sau în bacterii prin tehnologia ADN recombinant - primul vaccin de succes produs vreodată prin această tehnologie nouă. Totuși, acest lucru nu a funcționat în cazul HIV, chiar dacă acesta are unele asemănări cu virusul hepatitei, VHB. Motivul este că VHB este mai stabil din punct de vedere genetic și poartă un ADN dublu-catenar aproape complet în interiorul particulei de virus, care nu se modifică ușor, spre deosebire de genomul ARN monocatenar al HIV, care este atât de variabil încât toate eforturile de a-l „captura” au eșuat până acum. Predicția virologilor a fost atât de departe de adevăr încât toți cei implicați încă se rușinează de ea, deoarece diferențele dintre virusul hepatitei B, VHB și HIV erau deja cunoscute atunci de toți cercetătorii. Vaccinurile împotriva proteinei de suprafață au fost în cel mai bun caz capabile să neutralizeze virusul utilizat în eprubetă, dar nu și virusurile din viața reală, care nu sunt formate dintr-o singură specie, ci din mai multe specii diferite, cvasi-specii, și care, în plus, se pot schimba rapid.

O „vaccinare” neintenționată a avut loc în Australia, când pacienții cu o deficiență de coagulare a sângelui au primit suplimente cu un produs sanguin numit factor VIII. Cu toate acestea, produsul pe care l-au primit a fost contaminat cu un virus care era defect și căruia îi lipsea o genă accesorie a HIV, factorul de patogenitate (inițial „negativ”) Nef. Acesta era un virus cu replicare lentă și ar fi fost un vaccin ideal, așa cum se știe din vaccinurile anterioare, de exemplu vaccinul împotriva poliomielitei, un virus atenuat (cu replicare lentă). Acesta este unul dintre cele mai bune modele pentru un vaccin. Cu toate acestea, după o duzină de ani, unii beneficiari ai factorului VIII contaminat s-au îmbolnăvit: virusul a revenit la un virus cu replicare mai rapidă, refăcând gena defectă și provocând boala - spre marea surprindere a virusologilor.

Proteina de suprafață a fost analizată până la ultimul detaliu posibil, dar până acum fără succes. Virusul are nevoie de această moleculă de suprafață pentru a-și găsi celula gazdă. Prin urmare, moleculele de suprafață sunt încă în centrul atenției. În prezent, se adoptă o nouă abordare, exploatând anticorpii supraviețuitorilor pe termen lung, denumiți neprogresori pe termen lung (LTNP) sau controlori de elită (EC). Din întregul rezervor de anticorpi al unei astfel de persoane infectate, dar rezistente, sunt selectați în laborator anticorpii care se leagă de suprafața HIV și o neutralizează, făcând-o neinfecțioasă. 200 000 de anticorpi au fost examinați în cadrul unui tur de forță pentru a selecta câțiva candidați, care sunt acum în curs de dezvoltare pentru producerea unui nou vaccin.

Un prim studiu clinic la scară largă, RV144, a fost efectuat în Thailanda cu 16 000 de voluntari și a fost evaluat de mai multe ori, cu interpretări întotdeauna mai bune, în funcție de statisticile dintre 2009 și 2015. Vaccinul este o combinație *prime-boost* a unui vector al virusului canarypox (ALVAC) și a proteinelor de suprafață virală gpl20 (din eludă B și AE, ca monomeri nu

trimeri, nu se știa inițial că proteina de manta se *trimerizează* în mod natural, deci acest vaccin nu era optim). Acesta a redus riscul de infecție cu 31%. Fundația Bill și Melinda Gates sponsorizează o variantă a acestui vaccin în Africa cu 5400 de voluntari (clada C) și prezice - sau speră - succesul până în 2030.

Identitatea noilor tehnologii „anticorpi larg neutralizanți" (bnAbs) cu o nouă strategie. Dacă un vaccin eșuează, poate că mai multe dintre ele vor reuși - prin imunizări secvențiale, totuși. Răspunsul imunitar ar putea fi apoi ghidat pas cu pas pentru a dezvolta clase speciale de anticorpi pentru a lupta împotriva HIV - mai multe vaccinuri secvențiale care trag asupra unei ținte în mișcare? Dificil. Un vaccin „Ad-Env" este testat de Dan H. Barouch de la Harvard cu un adenovirus modificat pentru a exprima mai multe proteine HIV (Gag, Pol și Env) și o stimulare ulterioară numai cu proteina de suprafață virală Env.

Apoi, există o „abordare înșelătoare" pe drum. În loc să se utilizeze proteina de suprafață virală reală, se sintetizează o proteină similară ca antigen, mai imunogenă decât proteina de suprafață virală nativă **Env**, în speranța că și anticorpii o vor recunoaște mai bine pe cea nativă. Această abordare este cunoscută în studiile pe animale (am folosit-o și noi cu succes), poate funcționa, dar este nouă pentru HIV. Acum va fi testat un virus vaccinal „replicant": rețineți, virusurile *replicante* sunt cele mai eficiente ca vaccinuri - dacă nu provoacă boli. În acest caz, virusul este un virus herpes modificat CMV, astfel încât nu poate apărea din nou HIV intact din vaccin. Să sperăm și să așteptăm - 15 ani? 30 de ani?

„ADN-ul gol"

Într-o zi, în anii 1990, am primit o invitație neașteptată la Malvern, Pennsylvania, SUA. Fusesem anterior consilier acolo, timp de mai mulți ani, pentru compania Centocor, pentru aplicarea genelor canceroase în diagnosticarea sau terapia cancerului. Proiectul era acum un vaccin împotriva HIV și a fost înființată o filială a Centocor, denumită Apollon. Eu trebuia să conduc dezvoltarea acestui vaccin și am primit o carte de vizită impresionantă ca CSO, Chief Scientific Officer, pentru o echipă foarte mică! Eram în concediu de la Institutul Max Planck din Berlin timp de o săptămână pe lună; timpul petrecut la calculator nu era înregistrat. Știința era interesantă: obiectivul era un vaccin **ADN gol**, o noutate pe atunci, prin care mușchiul unui vaccinat este injectat cu ADN pentru a produce părți ale virusului, unele proteine, simulând infecția. Acest lucru ar trebui să ducă la formarea de anticorpi la receptor, ca vaccin. ADN-ul era o combinație complexă a unei varietăți de gene virale, gene de amplificare, dintre care unele proveneau de la alți viruși total diferiți sau chiar de la bacterii. Acesta este terenul de joacă al virologilor, dar și arta - secretul constă în selectarea, tăierea și recombinarea genelor pentru a intensifica anumite proprietăți și pentru a evita altele, ca module ale unui virus artificial. Aceasta a fost provocarea. Niciun virus patogen intact nu are voie să iasă din proces. Iar în testele clinice sau la vama de la frontiera SUA, ar trebui să fie clar că purtătorul nu a fost infectat, ci doar vaccinat.

În timp ce produceam cantități mari de ADN, brusc, toate eșantioanele, tuburile de text și reactivii s-au dovedit a fi contaminate cu ADN. A existat o scurgere undeva - până când am putut să o reparăm în laboratorul de siguranță, eram deja cu toții vaccinați prin aer, nas și plămâni. ADN-ul era sigur! Acesta a fost modificat în continuare într-un „manechin", astfel încât să nu poată fi furat sau imitat de concurenți - o precauție normală în industrie, dar mai puțin într-un laborator de cercetare - și nouă pentru mine.

ADN-ul a fost apoi testat pe unii pacienți infectați cu HIV din Zurich. Acesta a fost primul vaccin pe bază de ADN din Europa. „Evenimentele adverse" nu au apărut la pacienți în decurs de câțiva ani. (Cel mai important lucru a fost că voluntarii nu au dezvoltat răspunsuri autoimune).

Cu toate acestea, în mod neașteptat, imunologii locali de la Universitate au manifestat un comportament „advers sever" - poate pentru că le invadam „teritoriul"? Am încercat să cooperez înainte de a începe injectarea pacienților, dar nu am reușit. Am inițiat proiectul înainte de a veni la Zurich - încă ceva de reținut pentru alții dacă se dorește evitarea problemelor.

După injecții, am observat că un pacient a fost infectat cu o tulpină HIV „greșită”, care nu a putut fi recunoscută de vaccin. După un prim șoc, aceasta nu a fost o problemă reală, deoarece un studiu clinic de fază I pe pacienți este în mod normal doar un test de siguranță. Desigur, ne-am fi dorit să vedem o anumită eficacitate, o anumită protecție, chiar dacă nu acesta este scopul unui astfel de studiu. Construcția ADN este utilizată în prezent în armata americană, dar în combinație cu alte vaccinuri. Mai ales o abordare secvențială este atractivă, „*prime-boost*”, în acest caz un ADN-*prime* - și virus *boost*. Virusul este un Adenovirus modificat cu repere HIV, deoarece particulele de virus conduc la cele mai bune răspunsuri imune. Vaccinul ADN are aparent un efect de formare asupra celulelor imunitare, transformându-le în celule de memorie cu durată lungă de viață. Am observat că acesta este un efect neașteptat. Virusul pentru stimulare este uneori construit astfel încât să conțină triplete rare, denumite *„deoptimizarea codonilor*”; acest lucru încetinește producția de virus. O astfel de atenuare, care este frecvent destinată vaccinurilor, are ca rezultat incapacitatea virușilor de a provoca boli. Virusuri reale, dar încetinite, au fost utilizate în trecut ca principiu de bază pentru vaccinuri. Pentru a administra ADN, nu se mai folosesc ace de injectare; acum se folosesc pistoale pentru a injecta ADN-ul în mușchi. Am un astfel de pistol într-o cutie de siguranță cu o căptușeală de catifea roșie, livrată de producător, ceea ce îl face să pară foarte valoros - cu toate acestea, nu am găsit acest tip de injecție foarte eficient. Ar trebui concepute pistoale mai bune. Acest tip de vaccinare ADN este utilizat în întreaga lume în mai multe variante: împotriva gripei, a virusurilor respiratorii-sincițiale sau Ebola și a virusurilor Zika, recent apărute. Cu toate acestea, ADN-ul singur este prea ineficient, astfel încât sunt necesare combinații cu alte vaccinuri. Spre deosebire de virusuri, celulele canceroase adesea nu expun proteine străine pe suprafața lor, astfel încât sistemul imunitar nu poate fi antrenat cu ușurință să le recunoască ca ținte pentru producerea de anticorpi. Prin urmare, se încearcă recent să se exploateze nu producția de anticorpi, ci mai degrabă stimularea imunității mediate celular, prin creșterea limfocitelor cu ADN care codifică *citokine*. Prin urmare, în cadrul unui studiu clinic, am injectat un astfel de ADN (care produce interleukină-12) în pacienți cu melanom malign - cu un anumit efect (a se vedea mai jos). Ajutor pentru autoajutorare este ideea.

Microbicide ca „prezervative” pentru femei

Medicamentele anti-HIV care au eșuat ca terapii orale au fost recent transformate în medicamente pentru aplicare locală în vagin ca protecție împotriva transmiterii sexuale a HIV. La nivel mondial, femeile doresc să fie responsabile pentru protecția lor și nu doresc să lase acest lucru pe seama partenerilor lor de sex masculin. S-a dovedit că vaginul, ca țintă a microbicidelor pentru inactivarea microbilor și a HIV, a fost surprinzător de puțin caracterizat. Două teste cu microbicide efectuate de Fundația Bill și Melinda Gates au eșuat în stadii avansate de dezvoltare și au trebuit să fie încheiate prematur, deoarece s-a constatat că microbicidele favorizau infecțiile cu HIV, în loc să le prevină. În ciuda competenței și reputației sale, Fundația Gates a eșuat - ceea ce trebuie să indice că stadiul cunoștințelor noastre este inadecvat.

Împreună cu o duzină de oameni de știință europeni am organizat un curs EMBO Global-Exchange privind HIV/SIDA în Stellenbosch, Africa de Sud, în 2010, cu sprijinul Organizației Europene de Biologie Moleculară (EMBO) și al grantului meu. EMBO a inițiat acest curs ca unul dintre primii pași în direcția globalizării în afara Europei. Africa de Sud este țara cu cea mai mare prevalență a HIV la nivel mondial. Au participat 60 de tineri africani, dintre care unii au ezitat să se înscrie și nu au îndrăznit să îi informeze pe alții despre acest lucru - HIV era un subiect stigmatizat. Fostul președinte al Africii de Sud, Thabo Mbeki, a proclamat timp de mulți ani că infecțiile cu HIV pot fi evitate făcând duș. Acest lucru trebuie să fi ucis oameni.

Studenților le-au plăcut gențile de congres cu logo-ul EMBO și aproape că s-au luptat pentru ele. Nu am avut destule, deoarece jumătate din genți au dispărut la vamă și nu au mai apărut niciodată. Cursul a avut loc într-un loc sigur, la Stellenbosch, într-o clădire sponsorizată de Fundația suedeză Wallenberg. Studenții abia îndrăzneau să călătorească înainte și înapoi spre și dinspre Cape Town, și niciodată după apusul soarelui. Le era teamă să treacă prin orașele locale.

Într-o comună din apropiere de Cape Town, un milion de oameni trăiau în adăposturi primitive construite din cutii de carton, anvelope de maşină sau tablă ondulată. Am estimat că pentru aceşti mulţi oameni existau aproximativ 50 de toalete uscate, cabine albastre aliniate una lângă alta aproape în afara satului. În loc să vizităm podgoriile olandeze, am participat la o slujbă religioasă într-o comună. Totul a fost despre SIDA - predicile, rugăciunile, decoraţiunile şi discuţiile de după, oamenii apropiindu-se de noi, străinii: „Avem nevoie de ajutor” - bărbaţii cred că pot scăpa de HIV având contact cu o virgină - ce eroare fatală! În general, din păcate, am văzut puţine rezultate pentru investiţia mea de timp şi efort în curs. Organizaţiile mai mari au acum din ce în ce mai mult succes.

Toate studiile privind microbicidele au eşuat până în prezent. Chiar şi rezultatele celui mai promiţător studiu din Africa de Sud, studiul CAPRISA, care a fost prezentat în timpul reuniunii EMBO şi la Congresul internaţional privind SIDA de la Roma, unde a făcut mare vâlvă, s-au dovedit a nu fi direct reproductibile. Un alt studiu privind microbicidele, PrEP-VOICE, care a cuprins 10 000 de femei, nu a fost un succes. Mai mult de 30% nu au luat medicamentul aşa cum le-a fost prescris - lipsa de conformitate a fost explicaţia - care este adesea lipsa de educaţie şi poate nivelul lor de trai, cu locuinţe precare. O duzină de microbicide au eşuat până acum. Pentru a preveni administrarea nesigură a pastilelor de către voluntari, un medicament injectat sistemic de lungă durată este o opţiune, care este în curs de investigare cu un inhibitor de integrase. Ashley Haase de la Universitatea Minnesota din Minneapolis a arătat că HIV nu infectează celulele care căptuşesc vaginul, ci că virusul le ocoleşte prin joncţiuni celulare. O scurtătură folosită de virus - astfel încât compuşii celulari sunt ineficienţi, deoarece virusul rămâne în afara celulelor. Compusul nostru ar fi potrivit.

Prin urmare, studiile nu au fost concepute corespunzător din cauza lipsei de cunoştinţe. Cercetătorii trebuie să îşi facă „temele”, a fost concluzia. Virusul trebuie să fie ucis înainte de a intra în celule. Două studii clinice cu microbicide sunt în curs de desfăşurare în 2016 ((CONRAD 128 şi MTN-030/IPM 041) şi a fost testat un inel vaginal cu dublă funcţie, împotriva sarcinii şi a infecţiei cu HIV, cu rezultate moderate.

Împingerea HIV la „sinucidere”

Împreună cu colegii mei, am conceput o abordare în Zurich, pentru a ucide HIV înainte ca acesta să infecteze o celulă. Aplicarea în vagin ca microbicid ni s-a părut cea mai urgentă aplicaţie. „*Driving HIV into suicide*” a fost titlul unui comentariu din revista *Nature Biotechnology* în care am publicat rezultatele noastre (2007). Universitatea din Zurich a tipărit cărţi poştale cu acest slogan, care puteau fi ridicate din tramvaie în timpul jubileului universităţii. Totuşi, acest lucru nu ne-a ajutat să punem abordarea în practică. Este pur şi simplu prea dificil şi prea costisitor. Sinuciderea virusului se bazează pe „foarfecele moleculare” numite RNase H, care provoacă scindarea ARN în hibrizii ARN-ADN. Acest proces are loc în mod normal în interiorul celulelor după ce ARN-ul viral a fost copiat în ADN şi este apoi inutil. Foarfeca este prezentă în interiorul particulei virale, pregătită să treacă la treabă după ce virusul a intrat în celulă. Activarea sa în interiorul particulelor distruge ARN-ul înainte ca acesta să fie copiat, astfel încât virusul nu se poate replica - o „sinucidere” sau o fundătură pentru ciclul de viaţă viral. (Foarfeca RNase H este una dintre cele patru enzime retrovirale, singura care nu este încă vizată de un medicament inhibitor, deoarece există prea multe enzime similare în interiorul celulei. Activăm această enzimă: tratăm virusul înainte ca acesta să intre într-o celulă şi oferim o bucată de ADN care duce la un hibrid şi activează foarfeca virală, care omoară virusul. Am descris corect efectul ca „ADN amortizor de zgomot” - dar am primit un răspuns furios din partea unui recenzent, care a spus că numai „ARN amortizor de zgomot” este acceptabil - am cedat).

Un coleg de-al meu a introdus acul de păr ADN în vaginul şoarecilor, folosind un gel ca purtător. Abia cinci ani mai târziu am observat că aceeaşi substanţă a fost aprobată de agenţiile americane ca „factor de bunăstare” în timpul actului sexual şi ca lubrifiant pentru instrumentele medicale din trahee etc. Fundaţia Bill şi Melinda Gates a acceptat compusul nostru pentru testare în

cadrul unei proceduri standardizate - pentru a face datele direct comparabile. Cu toate acestea, procedura lor a fost concepută împotriva HIV din interiorul celulelor. Aceasta nu s-a aplicat compusului nostru şi, prin urmare, acesta a eşuat, ceea ce am prevăzut, dar nu am putut preveni. Hairpin-ul a distrus cu succes HIV într-un model special de şoarece SCID imunodeficient, a prevenit complet infecţia şi a redus, de asemenea, semnificativ dimensiunea tumorilor la şoareci. Un model de şoarece cu virus tumoral este un surogat pentru HIV, care nu infectează şoarecii - ceea ce reprezintă o mare problemă pentru cercetare, astfel încât ani de zile au fost utilizate doar maimuţe preţioase. Noi modele de şoareci sunt dezvoltate prin „*knocking-in*” noi proprietăţi. Am trimis rezultatele noastre privind reducerea şi prevenirea tumorilor sub formă de manuscris la *Nature Biotechnology.* Recenzenţii au solicitat un număr mai mare de şoareci pentru statistici mai bune în termen de patru săptămâni. Acest lucru mi-a creat probleme: prima autoare a rămas însărcinată şi nu a dorit să lucreze în adăpostul de animale, o alta plecase, alţi membri ai echipei au refuzat categoric să ia parte la studii pe animale, iar singurul tehnician dispus să ajute nu avea licenţă. Din 50 de colegi, nimeni nu mă putea ajuta. Aşa că mi-am anulat toate întâlnirile din institut şi m-am ocupat eu însumi - spre surprinderea mea, nu uitasem, în timpul anilor petrecuţi la birou, cum să manipulez şi să injectez şoareci.

Între timp, am încercat să îndeplinim solicitarea Fundaţiei Bill şi Melinda Gates, conform căreia microbicidele împotriva HIV ar trebui să fie de lungă durată. Am testat bucla de ADN în ac de păr după o depozitare îndelungată şi, de asemenea, în prezenţa spermei - un parametru critic pentru un microbicid util. La Institutul Heinrich Pette de Virusologie Experimentală din Hamburg, am amplasat un mic recipient în toaleta bărbaţilor, solicitând o „donaţie” anonimă de material seminal. Asta a funcţionat perfect - dar când am trimis manuscrisul ni s-a cerut imediat, înainte chiar de a-l procesa, consimţământul scris al donatorilor, inclusiv numele lor şi, în plus, aprobarea scrisă a Comitetului de etică de la spital - acest lucru a durat săptămâni. Astfel de solicitări sunt cu totul noi. (Chiar şi donatorului unui eşantion de fecale pentru transferul de fecale, descris mai jos, i s-a cerut retrospectiv să prezinte consimţământul scris). Astfel: Niciun lichid corporal nu poate fi prelevat de la nimeni fără consimţământ scris - nici lacrimi sau o picătură de urină - deoarece genele din lichid pot fi într-adevăr secvenţiate şi pot dezvălui o mulţime de informaţii personale.

Ce urmează? Un blocaj este reprezentat de producţia de înaltă calitate a ADN hairpin, în conformitate cu bunele practici de fabricaţie (GMP). Acest lucru este aproape imposibil de plătit. Am fost în Rusia, de două ori în China, o dată în Africa. HIV este încă un subiect tabu, iar producţia GMP extrem de costisitoare este necesară (chiar dacă, în unele cazuri, mi se pare inutilă) - nicio scurtătură nu este permisă în Lumea a Treia, iar cineva poate chiar risca să ajungă la închisoare. În timpul vizitei mele în China, şeful comisiei de admitere a fost condamnat la moarte şi împuşcat pentru supunere insuficient de strictă faţă de regulile chineze, pe care companiile occidentale încearcă adesea să le ocolească mergând în China. Organele sale ar fi putut salva câteva vieţi.

Originea și viitorul HIV

Este surprinzător faptul că unul dintre cele mai recente rezultate noi privind HIV se referă la originea sa. Cu ceva timp în urmă, o comisie a analizat posibilitatea ca HIV să fi fost cauzat de un vaccin antipolio contaminat. „Cel mai probabil nu” a fost cauzată de o contaminare cu HIV a vaccinului împotriva poliomielitei produs în celule de maimuţă.

Abia recent a fost efectuată o amplă analiză de secvenţiere a sute de eşantioane prelevate de la pacienţi din Kinshasa încă din anii 1920.

O tulpină HIV-1 (M este principala tulpină) poate fi identificată încă din 1900, iar o alta (O) din 1920 în Congo, care a crescut în 1960 cu o viteză neaşteptată în Kinshasa. Spitalele care tratau hepatita B, VHB şi bolile cu transmitere sexuală erau lipsite de ace sterile? Este posibil ca schimbările sociale şi politice şi, în anii 1920, reţeaua feroviară din nordul şi sud-estul statului Congo de atunci să fi favorizat răspândirea HIV SIDA este rezultatul a patru transmisii virale independente între specii de la primatele neumane la om, de două ori de la cimpanzei (M şi N) şi de două ori de la gorile (O şi P), după cum reiese din peste 6 000 de probe de fecale de maimuţe

colectate în mediul natural. Infecţia subgrupului O a fost observată în 1964 la un marinar norvegian, considerat a fi „primul” caz. Tulpinile O şi P s-au grupat în Camerun, la 1 000 km distanţă de Kinshasa. Râul Congo până la Kinshasa a servit la transportul de bunuri şi persoane - şi este posibil să fi contribuit la răspândirea virusului.

Doar grupul M al HIV-1 din cele patru s-a răspândit la nivel mondial şi a devenit pandemic. Acesta a fost transportat de refugiaţii haitieni care s-au întors acasă din Kinshasa în Haiti, apoi virusul s-a răspândit la San Francisco şi în restul lumii. Alte tulpini s-au grupat în Africa (grupul C) şi Rusia (grupul A), care se datorează unor „efecte fondatoare” singulare, transmiterea de la o singură persoană cauzând răspândiri locale. HIV-2 poate fi urmărit până în 1940 şi mai departe până în 1985 şi a suferit 9 infecţii independente de la primate la om, dar nu s-a răspândit niciodată. Prin urmare, HIV este în mod clar cauzat de contactul cu primatele, ceea ce este îngrijorător, deoarece 80 % din populaţie consumă în continuare carne de animale sălbatice, dintre care 20 % este contaminată cu HIV în prezent în Republica Democrată Congo (RDC). Noile infecţii individuale au fost deja monitorizate, continuând alfabetul diferitelor grupuri. Nu ştim ce a făcut ca doar una dintre tulpini, M, să devină pandemică! Un specialist pe această temă, Martine Peeters din Montpellier, a răspuns: mai mulţi parametri au coincis şi au provocat pandemia.

Cum rămâne cu viitorul HIV? HIV/SIDA nu mai este în primul rând o problemă pentru cercetare. Este virusul cel mai bine studiat dintre toate. „Eliminarea HIV/SIDA” a fost motto-ul lui Toni Fauci, şeful departamentului de boli infecţioase de la NIH, încă din 2012. Un coleg a declarat: „Mai bine mă îmbolnăvesc de HIV decât de diabet” (nu şi eu - ca să fiu sincer). Un obiectiv major este identificarea persoanelor nou infectate, astfel încât acestea să poată fi tratate la timp, atunci când sunt mai infecţioase. „Terapia ca prevenire” este o realizare importantă şi va ajuta până când într-o zi (poate) va apărea un vaccin.

Un efect surprinzător al HIV este apariţia cancerului în stadii avansate. Trei tipuri de cancer sunt în centrul atenţiei: limfoamele, cancerele de col uterin şi sarcoamele Kaposi (KS). Aceste cancere apar prin sinergia dintre HIV şi alţi viruşi, cum ar fi virusurile papiloma şi herpes. HIV în sine nu este un virus oncogen. Are o rudă, virusul leucemiei umane cu celule T, HTLV-1, care este oncogen şi endemic în Japonia, unde poate provoca leucemii fulminante. (Aceasta poate fi prevenită prin evitarea alăptării.) Retrovirusurile au stat la baza cercetării în domeniul cancerului şi încă sunt apropiate unul de celălalt. „Efectul lor didactic” pentru cercetătorii cancerului uman a fost enorm şi va fi discutat mai jos în contextul oncogenelor. În prezent, există un nou institut de cercetare înfiinţat sub conducerea lui Harold Varmus, care a câştigat Premiul Nobel pentru analiza primului oncogen retroviral Src. Una dintre întrebări este de ce pacienţii cu HIV dezvoltă cancer, în ciuda terapiilor şi a restaurării cel puţin parţiale a sistemului lor imunitar. Există defecte generale, care ne-ar putea ajuta să înţelegem efectul sistemului imunitar asupra dezvoltării cancerului? Incidenţa cancerului creşte odată cu vârsta, chiar şi în absenţa unui virus imunosupresor precum HIV. Ea este mai rapidă la pacienţii cu HIV, în ciuda terapiilor - de ce?

În Rusia am participat la un congres privind HIV şi cele două virusuri hepatitice VHC şi VHB (2013), susţinut de organizaţia americană de sănătate NIH, cu sesiuni despre diagnosticare şi terapie, pe lângă ştiinţă. Birocraţie, reglementare în ceea ce priveşte HIV/SIDA şi tuberculoza, printre altele în închisorile ruseşti. Tuberculoza este adesea o descriere de substituţie secretă pentru HIV/SIDA, pe care nu este social acceptabil să o menţionezi. În ciuda unui sistem de traducere simultană şi a anunţurilor de discuţii în engleză, nu a existat niciun traducător. Când, în cele din urmă, am găsit unul, acesta a refuzat să traducă sesiunea. Acest lucru mi-a făcut călătoria inutilă. Am vrut să înţeleg sistemul şi să îi găsesc pe responsabilii unui microbicid presupus. În niciun caz.

În schimb, am intervievat studenţii de la recepţie şi de la unele expoziţii industriale care ştiau puţină engleză. Nimeni nu i-a vizitat - niciun creion gratuit sau alte mici cadouri? Niciun interes? Oricum nu erau accesibile? Preţurile produselor terapeutice creşteau vertiginos. La standarde occidentale. O persoană fusese la Kiel şi vorbea germana, alta vorbea engleza. Nu, nu ştim nimic despre HIV/SIDA. Despre prezervative s-a discutat cândva, acum câţiva ani, dar oamenilor le era prea ruşine să le cumpere; homosexualitatea este un subiect interzis, ca şi drogurile, desigur. Nu, fiica mea de 14 ani nu ştie nimic despre HIV. Persoanele infectate cu HIV

trebuie să meargă „acasă”, în locul în care s-au născut. Terapia este aproape inexistentă. „Îmi iubesc țara” a fost o propoziție repetată între timp - pentru a mulțumi spionii care ar fi putut fi la ureche? Ea a preferat să iasă din clădire. Până acum 20 de ani, sistemul de sănătate era gratuit - dar nu mai este. Nu numai în Rusia, ci și în China și India, oamenii au nevoie de mai multe informații, diagnostice și terapii.

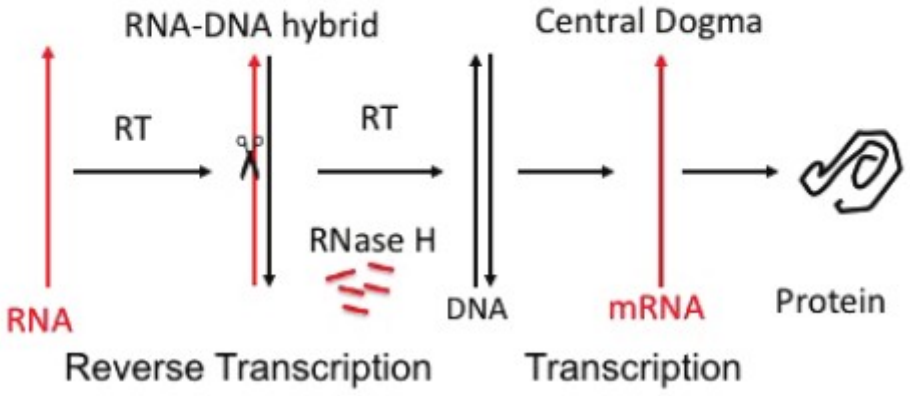
3. Retrovirușii și nemurirea

Transcriptaza inversă - o retrospectivă personală

Un jurnalist l-a întrebat pe Howard Temin, cu ocazia sărbătoririi Premiului Nobel la Stockholm în 1975, pentru ce a primit premiul. „Nu vă pot explica - v-ați pierde în 30 de secunde” a fost răspunsul său, «dar de ce nu scrieți în schimb »nu mai fumați”? Asta este mult mai important!” A fost un activist anti-fumat - chiar a abordat subiectul în timpul discursului său de acceptare în fața regelui Suediei - dar, din păcate, a murit de cancer pulmonar fără să fi fumat vreodată.

Temin nici măcar nu a încercat să explice descoperirea sa profanilor. Voi încerca totuși. Am fost martor la ea. El a descoperit ***transcriptaza inversă***, RT, enzima necesară pentru replicarea retrovirușilor precum HIV. Enzima are un rol mult mai important decât simpla replicare a virusului, după cum a anticipat Temin: ea joacă un rol în compoziția genomului nostru. Rudele retrovirușilor ne amplifică genele, schimbă compoziția genetică a genomului nostru, dar nu părăsesc niciodată o celulă. Astăzi, există chiar speculații conform cărora ar fi transcriptaza inversă prin care ADN-ul a evoluat din ARN în cursul evoluției. Când am început să cercetez *transcriptaza inversă*, RT nu era cunoscută, iar acum, 45 de ani mai târziu, este recunoscută ca fiind una dintre cele mai abundente - și probabil cele mai importante - proteine din biologie.

Cum am asistat la descoperirea *transcriptazei inverse*? „Replicația retrovirușilor” a fost titlul doctoratului meu, al tezei mele de doctorat. Îmi amintesc bine câteva dintre detalii. La sfârșitul anilor 1960 m-am întors din Berkeley, SUA, unde avusesem curajul să renunț la fizică și să trec în domeniul relativ necunoscut pe atunci al biologiei moleculare, într-o perioadă în care revoltele studențești făceau ravagii în campus. Întors în Germania, am căutat un proiect de doctorat.



În partea de sus: „PRO-ARN” primordial, prima biomoleculă, cu structură în buclă, probabil cel mai vechi „strămoș” al nostru, înrudit cu viroidul, ribozima, circARN și piARN de astăzi.
Jos: Replicația retrovirușilor și „dogma centrală”: fluxul de informații în biologie de la ARN sau ADN la proteine, cu transcriptază inversă (RT) și foarfeca moleculară ribonuclează H (RNază H), care elimină ARN din hibridul ARN-ADN, ARN mesager (ARNm) și proteine.

Gunther Stent, un genetician celebru, care emigrase de la Berlin la Berkeley, mi-a arătat în biroul său din Berkeley un model de birou al Institutului Max Planck din Tubingen și mi-a sugerat să merg acolo. Asta am și făcut, găsind trei subiecte în decurs de o zi, și am decis să îl accept pe cel

care mi s-a părut cel mai interesant și cel mai susceptibil de a da rezultate rapide. Priveliștea magnifică a lanțului muntos, Schwabische Albt, a avut o influență neștiințifică substanțială asupra deciziei mele. Am introdus biologia moleculară, pe care o învățasem în Statele Unite, într-un institut de virologie. Cu toate acestea, mai întâi a trebuit să trec peste o barieră dificilă. A trebuit să învăț cum să izolez virușii din pui vii pe care îi infectasem în prealabil cu virusul mieloblastozei aviare (AMV) care provoacă o boală a sângelui. Acest lucru presupunea prelevarea de sânge direct din inima puilor cu un ac hipodermic - o metodă care nu ar fi permisă astăzi. Subiectul proiectului meu a fost modul de replicare a acestui virus. La început, munca a stagnat timp de luni de zile. Apoi, în timpul uneia dintre faimoasele conferințe de luni seara de la Institutul Max Planck din Tubingen, am auzit de la Friedrich Bonhoeffer (care tocmai se întorsese de la o conferință Gordon) că Howard Temin descoperise o transcriptază inversă. Unii oameni au râs; „continuă să spună asta" a fost comentariul lor. Cu toate acestea, proiectul meu nu avansa. Așa că am decis să testez *transcriptaza inversă*. A doua zi, la ora 8 dimineața, am mers alături de Heinz Schaller, un specialist în replicarea ADN-ului, pentru a obține blocuri de ADN (inclusiv unele marcate radioactiv) în loc de ARN. Utilizarea acestora a fost singura diferență față de studiile mele anterioare, dar a fost una foarte importantă. Aveam o mulțime de virusuri de la puncția inimii găinilor. Seara, Schaller și colegii săi s-au adunat la detectorul de radioactivitate pentru a analiza rezultatul: a fost produsă o cantitate incredibilă de ADN marcat radioactiv, iar contorul a atins limita superioară a scării sale de măsurare. Cu o idee bună, se poate realiza un experiment câștigător al premiului Nobel într-o după-amiază. Dar, din păcate, eu nu am avut ideea „corectă"! Am căutat enzima greșită, o ARN polimerază în loc de o ADN polimerază. În câteva săptămâni, toate blocurile de ADN (nucleotide) au fost epuizate în întreaga lume. Detergentul neionic utilizat pentru distrugerea virusului a fost obținut de la benzinării - această informație s-a răspândit rapid din gură în gură, astfel încât și detergentul a devenit rapid indisponibil. Întreaga lume părea să studieze *transcriptaza inversă*, RT! Temin însuși a trebuit să învingă scepticismul propriilor săi colaboratori, care considerau că ideea unui intermediar ADN pentru un virus ARN era foarte puțin probabilă. Dar, pe baza acestor experimente, Temin și-a dus viziunea mult mai departe și a prezis integrarea acestui intermediar ADN, pe care l-a denumit **provirus ADN**, în ADN-ul organismului gazdă. Acest virus ARN se poate „ascunde", sub forma unui provirus ADN, în ADN-ul gazdei, iar acest truc îl ajută să supraviețuiască. Acest lucru a dus la denumirile de „retrovirus" și „transcriptază inversă". Acești viruși endogeni și structuri înrudite populează genomurile noastre în cantități mari, aproape 50 % - datorită RT. Dar transcriptaza inversă, RT, poate face chiar mult mai mult decât atât - după cum vom vedea.

Cum se poate obține ADN din ARN? Prin mai mult de un pas? Da, cu ajutorul unei foarfece moleculare, o nuclează, o enzimă numită **ribonuclază H** sau mai scurt **RNază H**. (Mai detaliat: virusul intră într-o celulă, apoi ARN-ul viral este mai întâi copiat de *transcriptaza inversă* în ADN prin intermediul unui hibrid ARN-ADN. În acest fel, ARN-ul și-a îndeplinit funcția și trebuie să fie eliminat de RNază Hdin hibrid pentru a permite producerea unui ADN dublu catenar).

La prânzul de la Institutul Max Planck, MPI din Tubingen, am vorbit cu un student care analiza glandele timus ale vițeilor, Werner Buesen. El obișnuia să meargă la abatoare pentru a ridica țesutul timusului și a izolat din acesta o **RNază H**. Cu toate acestea, nu avea nicio idee la ce ar putea fi bună enzima - de fapt, nimeni nu știa. Doar câteva luni mai târziu mi-a trecut prin minte că o astfel de enzimă de tip foarfecă ar putea fi folosită de virus pentru a scăpa de ARN, așa că am testat această idee. Colegul meu mi-a dat niște ARN prețios marcat radioactiv și, cu siguranță, am putut dovedi existența activității RNase H atunci când ARN-ul a fost dizolvat. (Mai târziu am aflat că **RNaza H** este fuzionată cu transcriptaza inversă, într-o singură moleculă, cele două sunt legate și se mișcă în tandem. RT copiază ARN-ul și, la câteva nucleotide în urmă, RNaza H face curățenie, eliminând ARN-ul - foarte eficient). Descoperirea unei enzime de scindare precum **RNase H** într-un retrovirus mi-a adus un articol în *Nature*, un doctorat, invitații de a ține conferințe în SUA și un număr surprinzător de mare de coautori. Toți au susținut că au contribuit la lucrare sau la idei. Ideile bune au mulți autori, după cum am învățat mai târziu. De asemenea, am învățat despre frustrare,

deoarece din acel moment nu am reușit aproape deloc să țin pasul cu explozia de lucrări care au apărut pe această temă. Toți ceilalți păreau să fie întotdeauna mai rapizi decât mine.

Mai există un aspect. Oamenii mă întreabă adesea cum fac oamenii de știință să obțină idei bune sau să facă descoperiri? Iată un exemplu - luați prânzul cu alți oameni de știință, mâncați - întrebați, ascultați și învățați! Fără fast-food, însă!

Celebrul virusolog de atunci, Peter Duesberg, care era un excelent om de știință și profesor la Berkeley pe vremea când eram eu acolo (și cunoscut nu în ultimul rând pentru fotografiile sale provocatoare cu fete pin-up pe incubatoarele sale pentru culturi de țesuturi) nu a putut găsi enzima de eliminare a ARN **RNase H** în virusurile de șoarece. M-am uitat la virusurile de pui. În opinia sa, observația mea era o excepție singulară în cazul unui virus aviar. Din fericire pentru mine, el a publicat această opinie și nimic nu mi s-ar fi putut întâmpla mai bine în calitate de tânăr student decât oportunitatea de a dovedi că un om de știință de renume mondial se înșeală. Am devenit prieteni pe viață, venea adesea la Berlin, unde își vizita mama, și ne întâlneam chiar și pentru mari discuții pe podium despre pericolul celui mai important retrovirus HIV - dar nu eram aproape niciodată de aceeași părere.

Am fost norocos că am avut și eu cantități atât de mari de virusuri de șoarece, datorită celulelor „Eveline”, o linie celulară permanentă stabilită de un tehnician cu acest nume - suficient virus pentru a rezolva controversa științifică și pentru experimente care au condus la mai multe lucrări. Cu toate acestea, Eveline a plătit un preț ridicat - deteriorarea articulațiilor sale din cauza pipetărilor repetate.

Mai târziu, după o mutare la Institutul Robert Koch din Berlin, am observat că *transcriptaza inversă* RT purificată era formată din două subunități și nu din una singură, așa cum se aștepta toată lumea. Se puteau vedea cele două benzi (prin colorarea proteinei după separarea lor după dimensiune într-un câmp electric). Încă o dată, la Cold Spring Harbor Laboratory, am auzit în timpul simpozionului mai mulți vorbitori celebri descriind cea de-a doua bandă ca fiind un cofactor de origine celulară. Se știa că și alte polimeraze aveau acest lucru, un factor *sigma*. Cu toate acestea, rezultatele lor erau mai mult speculații și se bazau pe o analogie, nu pe experimente. Mi-am adunat tot curajul și l-am abordat pe Jim Watson, directorul de atunci al laboratorului, spunându-i că am observat o creștere a benzii inferioare în detrimentul celei superioare. Banda inferioară este un produs de degradare - nu un factor al celulei gazdă. Adăugarea unui pic de protează (care favorizează degradarea) ar accelera procesul. „Aveți diapozitive? Mâine țineți o conferință”. Am făcut-o. Trei luni mai târziu m-a sunat la Institutul Robert Koch din Berlin. Încă mă întreb cum mi-a găsit numărul de telefon. „Nu ați descris scindarea *transcriptazei inverse* și descompunerea ei în două subunități? Acum, dintr-o dată, patru lucrări pe această temă au fost trimise pentru publicare în volumul *Symposium*.” Niciun cuvânt despre un factor *sigma* străin de celulă! Niciun cuvânt despre rezultatul meu! Toate acestea au fost publicate în volumul *Symposium* care a apărut în 1975 și care a inclus contribuția mea, dar și toate celelalte „corectate”. De atunci, Watson nu a uitat niciodată numele meu. „Bună, Karin”, spune el încă la vârsta de peste 85 de ani și mă invită la masa lui pentru cina cu homar. Watson a scris o carte cu titlul *Avoid Boring People*, în care descrie secretele succesului: „nu fi niciodată cel mai deștept de la masă”, stai alături de oameni care sunt mai deștepți decât tine - așa că eram acolo, făcând exact ceea ce trebuia.

Ca fizician și doctorand, nu știam cum să izolez o enzimă precum RT. Am închiriat o cameră la St. Josephs Home din Zurich (cu o Biblie pe noptieră). Mi s-a permis să asist la izolarea unei enzime în institutul lui Charles Weissmann de la Universitate, urmărindu-l pe tehnicianul său și tremurând violent în camera frigorifică, unde trebuie făcută izolarea - altfel enzima și-ar pierde activitatea. Weissmann izola **replicasa Q-beta** din bacterii (care va fi menționată din nou în ultimul capitol al acestei cărți). Apoi m-am întors acasă, la Institutul Max Planck din Tubingen, pentru a izola enzima de replicare RT din virusurile de pui. Învățasem, de asemenea, o lecție tipică lui Weissmann: calculați intrările și ieșirile, cunoașteți cifrele, testați echilibrul lor - după aceea, nu am mai uitat niciodată să număr tot ceea ce făceam. Împreună cu Weissmann am elaborat mai multe modele de replicare a virusului cu o RT și o RNază H, pe care le-am publicat împreună - și toate modelele noastre erau teribil de greșite! Replicarea retrovirușilor s-a dovedit a fi mult mai

complicată decât ne imaginasem. Rezultatul naturii prin încercare şi eroare. Ani mai târziu, compania Boehringer m-a contactat şi a comandat cantităţi masive de enzimă RT pentru a o vinde: fiecare laborator dorea să o folosească ca instrument pentru a produce ADN din ARN. Problema cu cele două subunităţi s-a dovedit a fi foarte importantă, dar s-a rezolvat automat în timpul depozitării enzimei - exact aşa cum s-a întâmplat în congelatorul meu. Am fost norocos să aduc fonduri de cercetare înapoi la Institutul din Berlin.

La începutul anilor 1980, aproximativ 15 ani mai târziu, a fost descoperit HIV, cel mai important retrovirus, şi am început să analizăm enzimele de replicare, RT/RNase H ale HIV. În prezent, încerc să „ucid" HIV prin activarea (mai degrabă decât inhibarea) foarfecelor RNase H prematur în particulele de virus din afara celulei, în speranţa că acest lucru poate duce în cele din urmă la o terapie şi poate preveni producerea virusului şi răspândirea bolii. Când am început munca noastră cu HIV, am vrut să pregătim anticorpi monoclonali, care tocmai fuseseră dezvoltaţi şi care sunt utili pentru purificarea şi caracterizarea diferitelor substanţe datorită specificităţii lor ridicate. Primul pas presupune imunizarea şoarecilor cu RT purificat. Un mic semn „HIV-RT" pe cuşca şoarecilor a provocat panică la Institutul Max Planck din Berlin. Un inspector care venise de la München pentru a rezolva cazul nu a îndrăznit să dea mâna cu mine, atât de speriat era de virus. Scandalul a escaladat atunci când cuşca a fost mutată, după curăţare, într-un loc uşor diferit în aceeaşi cameră pentru animale. Acest lucru a fost interpretat - în mod absolut nejustificat - ca o îndepărtare ca „ascundere de dovezi". Pentru a compensa această problemă, mi s-a permis mai târziu să pregătesc *transcriptaza inversă* pentru o călătorie pe orbită în jurul Pământului, pentru o încercare de cristalizare în condiţii de gravitaţie scăzută, împreună cu alte proteine (ribosomale) de la Institut. În mod dezamăgitor, acest lucru nu a mers - cristalizarea s-a dovedit, mult mai târziu, a fi posibilă numai atunci când enzima RT este blocată într-o anumită conformaţie de un medicament, în cazul meu era prea flexibilă! Cristalele sunt necesare pentru proiectarea de medicamente pentru terapii.

Mai târziu, în cercetările mele, m-am confruntat de mai multe ori cu teama faţă de munca noastră. Acest lucru s-a întâmplat cu virusurile gripale, SARS şi canceroase şi a afectat nu numai colegii, ci şi colegii lor de muncă şi adesea soţii lor. Această suspiciune nu era nejustificată, deoarece au existat într-adevăr mai multe accidente, cum ar fi evadarea SARS (de trei ori!) dintr-un laborator de izolare de înaltă securitate din China; în plus, unele broaşte de laborator (Xenopus laevis) au scăpat odată şi au devenit o molimă în California.

RT este o specialitate a retrovirusurilor şi a venit ca o surpriză, deoarece nimeni nu se aştepta ca ARN-ul să fie transcris în ADN pentru replicare. Aceasta a fost inversarea „dogmei centrale" a biologiei moleculare, care presupune că drumul biosintezei este de la ADN la ARN la proteine, în două procese succesive denumite, respectiv, „**transcriere**" şi „**traducere**". Temin şi, independent, David Baltimore au demonstrat că şi reversul este adevărat: ADN-ul poate fi biosintetizat din ARN. Această inversare a transcripţiei a fost denumită în consecinţă transcripţie „inversă", ceea ce a dus la denumirea enzimei „*transcriptază inversă*", RT. (În mod interesant, RT poate efectua două reacţii: ARN la ADN şi ADN la ADN, iar între acestea două ARN-ul original, după ce a fost copiat, trebuie să fie eliminat de RNaza H. Rezultatul final este ADN dublu catenar).

Descoperirea fluxului invers de informaţii a fost o mare surpriză. În consecinţă, ADN-ul poate fi apoi integrat în ADN-ul genomic al gazdei şi poate fi transmis atât timp cât celula trăieşte şi se divide ca genă celulară. În mod normal, retrovirusurile nu lizează sau nu distrug celulele gazdă, ci „răsar" din membranele celulelor. Dacă credem că ARN-ul a apărut primul şi că ADN-ul a apărut mai târziu în cursul evoluţiei, atunci denumirea de transcriptază „inversă" este de fapt greşită: **pasul de la ARN la ADN nu este unul invers, ci unul direct**. Prin urmare, o denumire strict corectă ar fi „transcriptază reală"! Într-adevăr, acest lucru ar permite utilizarea aceleiaşi abrevieri - cu toate acestea, nimeni nu este interesat de o astfel de schimbare.

Acum că, la figurat vorbind, fiecare genom posibil a fost secvenţiat, ultima surpriză a fost că există numeroase *transcriptaze inverse*. Acestea sunt prezente în multe organisme, în toate eucariotele (animale şi plante), dar şi în *archaea*, în bacterii, în spliceosomi, în retrotransposoni, într-un ciudat msDNA multi-satelit chimeric şi în sistemele imunitare umane şi bacteriene. Numai

în bacterii există mai mult de 1000 de tipuri diferite de *transcriptaze inverse*. La ce servesc toate acestea? În celulele mamiferelor, cunoaștem retrotranspozonii, care codifică transcriptazele inverse necesare pentru mecanismul „copy-and-paste” al ADN-ului celular descris mai jos (retrotranspozonii amintesc de retrovirusurile simplificate). Cât de neașteptat a fost acest lucru poate fi descris printr-o anecdotă. În 1978, unul dintre codescoperitorii *transcriptazei inverse*, David Baltimore, s-a ridicat în picioare în timpul unei ședințe când cineva a descris existența *transcriptazei inverse* la muște: „Din câte știu eu, muștele nu au retrovirusuri”. Abia mult mai târziu am aflat răspunsul - și muștele au *transcriptază inversă* nu de la retrovirusuri, ci de la rudele lor, retrotranspozonii, care sunt precursori sau retrovirusuri trunchiate „schilodite” și sunt larg răspândite, inclusiv la muște, sunt extrem de abundente. S-a întâmplat ca retrovirusurile, ca un caz special, să fie descoperite primele!

Astfel, transcriptazele inverse nu sunt legate numai de retrovirusuri. Deoarece fagii sunt, de asemenea, viruși care conțin în principal ADN, ne-am putea imagina că și aceștia au avut odată genomuri ARN și abia mai târziu ADN și, între timp, proprietăți asemănătoare retrovirusurilor, doar prin evoluție. Atunci ne-am aștepta să găsim și „retrofagi”. Am inventat acest cuvânt. Dar, după cunoștințele mele, există un singur „retrofag” care adăpostește o *transcriptază inversă* - în ciuda unei căutări intense la care am participat și eu (a se vedea mai jos).

Acum știm că *transcriptaza inversă* este o enzimă-cheie în biologie. Poate chiar a „inventat” ADN-ul în primul rând; enzima RT a fost cu siguranță esențială în construirea genomurilor, inclusiv al nostru, în timpul evoluției, unde este recunoscută cu mai mult de 100 de milioane de ani în urmă. Poate că inițial a existat un RT precursor mai simplu, mai primitiv. Subliniez importanța *transcriptazei inverse* nu (doar) pentru că, în calitate de specialist în această enzimă, punctul meu de vedere este părtinitor, ci există chiar dovezi noi ale importanței sale scandaloase: este una dintre cele mai abundente proteine din întreaga lume și chiar prima într-un proiect de prelevare de probe din oceane, reprezentând 13,5 % din toate proteinele din plancton - 45 de ani mai târziu. Cum s-a ajuns aici? Retrovirusurile, retrotransposonii și mecanismele de *copy-and-paste* sunt împreună și au construit genomurile în sistemele biologice ca motoare ale evoluției. RT este molecula numărul unu în top - împreună cu **RNaza H**, care urmează în capitolul următor.

RNaza H - foarfecă moleculară

O lucrare pe care am publicat-o cândva într-o revistă de calitate relativ scăzută este citată cel mai frecvent. În mod normal, nu este cazul. Frecvența citării este un criteriu de calitate important - care însă, evident, poate merge prost. S-a întâmplat așa: Descoperisem foarfeca, ribonuclaza H sau RNase H în retrovirusurile animale și apoi și în HIV. (Este esențial pentru replicarea retrovirușilor în drumul lor de la ARN la ADN dublu-catenar, ARN-ul dintr-un hibrid ARN-ADN trebuie să fie îndepărtat, tăiat de ribonuclaza H (RNase H) cu specificitate hibridă). În anii '90 am primit un telefon și am fost întrebat: „Ați demonstrat că această enzimă este într-adevăr necesară pentru replicarea virală? Este o țintă validată?” Apelul a venit de la o companie care era interesată să găsească un inhibitor împotriva RNazei H. O companie va începe doar cu proiectarea de medicamente împotriva unei componente virale esențiale, o „țintă validată”, deoarece dezvoltarea de medicamente este un efort atât de mare și costisitor. „Da, desigur”, a fost prima mea reacție, «Altfel, un ADN dublu-catenar nu ar fi posibil - ARN-ul trebuie să fie eliminat după ce a fost copiat în ADN monocatenar». Acesta a fost, totuși, un răspuns prematur. „Există o dovadă formală în acest sens?” Nu! Nu mi-a trecut prin cap până acum că nu există. În acest scop, ar trebui să se producă o mutație a RNazei H (adică să i se distrugă activitatea) și să se demonstreze că virusul nu se mai poate replica. Aceasta ar fi o mutație de tip „pierdere de funcție”. Nu am putut efectua acest experiment, deoarece este nevoie de o copie ADN infecțioasă (clonă) a HIV, de mutageneză dirijată și de testarea virusului mutant infecțios; acest lucru nu poate fi realizat decât într-un laborator de înaltă securitate, la cel mai înalt nivel de biosiguranță, nivel 4. Singurul grup capabil de acest lucru era cel de la Wellcome Co. din Londra. I-am sunat și am stabilit o cooperare. Pentru mutageneză ne-am uitat la secvențe care fuseseră descrise în bacteria *E. coli* și care erau cunoscute. Prin urmare, a

fost ușor să găsim locurile importante pentru mutație, deoarece acestea sunt conservate. Acest lucru a funcționat bine. Spre surprinderea mea, nu mi-a trecut prin cap în acele zile să mă întreb la ce este bună o *RNază H* în bacterii. Cum ar putea exista o relație între o bacterie și un retrovirus uman? La acea vreme, nu eram atât de obișnuit să mă gândesc la implicațiile evolutive, așa cum sunt astăzi! [Tema comună este că toate sistemele de replicare a ADN-ului au nevoie de un starter - o bucată de ARN de care să se agațe, care este ulterior îndepărtată de o RNază H).

Am zburat la Londra, am scris și am trimis lucrarea la o revistă pentru publicare. A fost respinsă - am încercat din nou și a fost respinsă din nou. A fost respinsă în mod repetat, deoarece fiecare recenzent științific era deja convins - așa cum am fost și eu inițial - că foarfeca **RNase H** era esențială, astfel încât nimeni nu mai simțea nevoia să vadă dovezi în acest sens. A fost acceptată ca un fapt! În cele din urmă, lucrarea a fost publicată în *Journal of General Virology*, un organ deloc prestigios în acele vremuri. Astăzi, această lucrare este considerată a fi de o importanță fundamentală și se numără printre cele mai frecvent citate lucrări pe care le-am publicat vreodată, în ciuda faptului că nu a apărut într-o revistă de nivel înalt - un lucru la care trebuie să ne gândim!

RNaza H este foarte abundentă, ceea ce explică de ce nu există inhibitori pentru aceasta: prea multe enzime ar fi afectate, ceea ce ar putea provoca la rândul său efecte secundare. Chiar și *integazele* fac parte din această familie. De asemenea, ele clivează ca o foarfecă moleculară, dar pot și să vindece tăietura. Foarfecele chiar „taie” legăturile moleculare. Toate conțin o triadă de trei aminoacizi neconturbi conservați DDE pentru a fixa un magneziu, din 100 care nu sunt conservați. Am încercat odată să găsesc o proteină înrudită prin compararea secvențelor. Nu am exploatat DDE și am eșuat, doar structura cristalină a dovedit în cele din urmă relația - și o concluzie foarte generală este: secvența nu contează, dar plierea, structura da - ca în artă și design „forma urmează funcția”.

În Japonia am primit un cadou de adio înainte de pensionarea mea obligatorie de la Universitatea din Zurich: un model din rășină epoxidică, pe care a fost fixată cu laser structura cristalină a RNazei H pe baza secvenței publicate în *Nature*. Robert Crouch, de la Institutul Național de Sănătate din Bethesda, SUA, l-a făcut pentru mine, iar frumusețea acestui cadou mi-a atins inima. Astăzi puteți cumpăra astfel de blocuri, cu două inimi, de pe tarabele din piață, drept cadou pentru un prieten apropiat - chiar și fără coordonatele publicate în *Nature*.

RNaza H și embrionii

Recent, RNazele H fără retrovirusuri au fost detectate și la om. Andrew Jackson și colegii săi din Edinburgh, Scoția, au analizat o boală genetică la om, retardul mental, sindromul Aicardi-Goutieres (AGS). Spre surprinderea lor, ei au identificat o RNază H drept vinovată. Enzima nu era încă cunoscută la om. Aceasta constă din trei subunități, RNase H2A, B și C, și doar una dintre acestea este activă. Apoi, există o altă RNază H1 în mitocondrii. Acest lucru ridică suspiciunea că este de origine bacteriană, deoarece bacteriile sunt precursorii mitocondriilor noastre. RNaza H celulară elimină nucleotidele ARN individuale din genomul nostru ADN dacă, din greșeală, unele sunt încorporate acolo. Genomul nostru conține sute de astfel de încorporări greșite, astfel încât acesta pare să fie un accident frecvent. Foarfeca RNase H purifică genomul nostru de aceste nucleotide greșite, prevenind instabilitățile genetice. Eșecul duce la apariția bolilor. O astfel de boală este AGS. Acum, specialiștii pentru stabilități genomice reîmprospătează întâlnirile bianuale puțin demodate ale RNase H.

De ce este suficient un singur tip de RNază H pentru HIV, în timp ce oamenii au nevoie de trei? Există un principiu în spatele acestui lucru: cu cât un organism este mai înalt, cu atât este mai complex. RNaza H celulară la mamifere trebuie să îndeplinească funcții suplimentare, care sunt distribuite pe mai multe proteine. Dacă una dintre ele eșuează, acest lucru este fatal, „letal embrionar”.

Se observă frecvent că complexele multiproteice de la mamifere au un rol de jucat în timpul embriogenezei. HIV nu are embrioni și, prin urmare, o simplă RNază H este suficientă. Dar RNaza H cu numele PIWI este extrem de importantă în *silencing*, în special în celulele germinale, pentru a

preveni saltul genelor (retrotransposoni în mișcare). Astfel, PIWI (împreună cu unele ARN) este gardianul genomului nostru, necesar pentru fertilitatea materialului seminal.

RNaza H își poate diversifica funcțiile prin combinarea diferitelor blocuri de construcție într-un mod modular. Fuziunea cu mai multe domenii diferite conduce la noi funcții. Enzima în sine nu poate decât să cliveze, dar unde, când și ce clivează este dictat de partenerul de fuziune. Se cunosc aproximativ o duzină de astfel de parteneri de fuziune. Doar unul dintre aceștia este *transcriptaza inversă*. Aceasta trage RNaza H ca o nuclează, enzimă de clivare, de-a lungul ARN-ului, iar atunci când se oprește sau se poticnește, pauza este folosită de RNaza H pentru a efectua o tăiere (activitatea sa catalitică este mai lentă decât cea a *transcriptazei inverse*). Este surprinzător cât de multe RNaze H există cu funcții neașteptate. Am studiat RNaza H virală timp de decenii, probabil cu o minte foarte îngustă. Multe dintre celelalte funcții au fost recunoscute abia mai târziu, ca urmare a noilor tehnologii de secvențiere. Eu însumi sunt surprins de faptul că RNaza H este cea mai frecventă și mai veche structură din lumea proteinelor, devansând chiar RT, după cum arată recentele analize filogenetice bazate pe secvențierea genelor determinate de Gustavo Caetano-Anolles din Urbana, Illinois. Oriunde există acizi nucleici, este nevoie și de foarfece, pentru a tăia sau a „reduce la tăcere” acizii nucleici. Acestea au multe denumiri diferite, cum ar fi Drosha, Argonaut, Cas9 și PIWI. RNaza H și transcriptaza inversă sunt printre cele mai importante componente pentru dezvoltarea și integritatea genomurilor - atât al nostru, cât și al altor specii. Nu spun acest lucru pentru că ele sunt în centrul cercetării mele. Este chiar adevărat!

Telomeraza și viața veșnică

Putem trăi pentru totdeauna? Cel mai vechi vis al oamenilor este longevitatea eternă. Există? Da, există. Există într-adevăr celule care pot trăi veșnic - un fapt pe care îl consider uluitor. Din păcate, aceste celule sunt celule tumorale. Toate celulele corpului nostru au viață scurtă, chiar mai scurtă decât corpul nostru în ansamblu. Toate celulele trebuie să fie refăcute constant de către celulele *stem* de-a lungul vieții noastre. Nu la fel se întâmplă cu celulele canceroase. În aproape fiecare laborator se găsește linia celulară „HeLa”, care are mai mult de 60 de ani. Celulele HeLa sunt calul de bătaie al multor cercetători în domeniul cancerului. Ele provin dintr-un carcinom de col uterin al unei femei pe care am numit-o întotdeauna Helene Lange, dar al cărei nume real era Henrietta Lacks, o afro-americană care a murit, după ce a născut cinci copii, la vârsta de 31 de ani, din cauza carcinomului de col uterin. Celulele au fost aduse în cultură în 1951 și crescute, o procedură care nu mai reușise până atunci. Probabil, aceasta era o tumoare cu o creștere foarte agresivă. Acum, dintr-o dată, descendenții Henriettei încep să se plângă că nu au știut despre aceste celule ale străbunicii lor. A apărut o emisiune de televiziune și o nouă carte cu titlul *The Immortal Life of Henrietta Lacks* (2010). Genomul celulelor a fost secvențiat, iar rudele sunt îngrijorate de posibila dezvăluire a trăsăturilor lor genetice, poate chiar a defectelor, pe care le-ar putea purta și ele. De acum înainte, rezultatele obținute cu această linie celulară trebuie să fie raportate agențiilor de finanțare. Cu toate acestea, mi se pare destul de puțin probabil ca celulele - după aproximativ 6 000 de treceri în condiții nestandardizate - să fie la fel peste tot. Vor exista multe modificări cromozomiale. Mi se pare surprinzător faptul că celulele tumorale pot trăi „pentru totdeauna” - de ce nu doar un pic mai mult decât celulele normale ale pacientului, de ce pentru totdeauna? (În condiții de laborator, desigur, dar totuși!) Cum trăiesc celulele tumorale pentru totdeauna? Se poate învăța de la ele pentru longevitatea fără cancer? Ce alte celule trăiesc pentru totdeauna - Mi se pune această întrebare în timpul interviurilor. Celulele noastre germinale sunt transmise de la o generație la alta - nemuritoare? Și celulele *stem* - cât de mult ar putea trăi? Ele au nevoie de o nișă, astfel încât vârsta și longevitatea depind și de mediu. Micul animal de tip cărăbuș tardigrade a trăit mult, a rămas viabil timp de 40 de ani într-un congelator la -20°C. Un semn distinctiv al celulelor tumorale este telomeraza, o transcriptază inversă specializată. Se numește „TERT”, Telomerase Reverse Transcriptase. Aceasta este localizată la capetele tuturor cromozomilor, telomerii, și este activă acolo în timpul vieții embrionare, alungind capetele pentru a genera o zonă tampon. Alungirea

constă în repetări foarte plictisitoare, şapte nucleotide, iar şi iar. După naştere, capetele devin mai scurte cu fiecare diviziune celulară. Acest lucru se datorează faptului că maşinăria de replicare a ADN-ului are nevoie de un anumit spaţiu, ca un „scaun”, pentru a se întoarce. Această piesă se pierde, este un ceas molecular, în timpul fiecărei runde de diviziune celulară capetele devin din ce în ce mai scurte până când se ajunge la informaţii genetice importante - atunci devine periculos! În acest moment, capetele se grupează şi se lipesc, iar celula va muri. Acest lucru a fost deja descoperit de Barbara McClintock, care va fi menţionată din nou mai târziu. Se poate folosi lungimea telomerilor ca predictor al speranţei de viaţă? Nu, nu este posibil, deoarece celulele diferite au ceasuri moleculare diferite, care ticăie la viteze diferite, astfel încât telomerii au lungimi diferite. S-ar putea, în acest caz, să se restabilească cel puţin capetele şterse, pentru a opri moartea celulară şi, astfel, pentru a avea o viaţă mai lungă? Într-adevăr, acesta ar putea fi un obiectiv - cu toate acestea, o celulă cu viaţă lungă de acest tip ar fi o celulă tumorală. Celulele HeLa sunt astfel de celule tumorale. O caracteristică generală a celulelor tumorale este că se pot diviza la nesfârşit. În celulele tumorale, telomeraza este din nou activă, ducând la alungirea capetelor, la fel ca în embrion. Arhimede a cerut un loc în afara pământului pentru a-l putea ridica. Aici, locaţia nu se află în afara cromozomului, ci lângă capetele extinse.

Am putea inversa argumentul şi să ne întrebăm dacă există un inhibitor capabil să oprească creşterea celulelor tumorale, prin blocarea telomerazei, acţionând astfel ca un medicament universal împotriva cancerului? Da, într-adevăr: în 90% din toate tumorile, telomeraza este activă şi reprezintă o ţintă potenţială pentru terapie. Această abordare este în curs de dezvoltare, printre altele, la Institutul Pasteur din Paris şi la Geron Corporation din SUA.

De asemenea, se poate activa o telomerază pentru a prelungi viaţa anumitor celule. Aceasta ar fi o terapie anti-îmbătrânire, pentru tinereţe veşnică - poate pentru o piele fără riduri! Companiile biotehnologice sunt interesate de creme, care sunt anunţate la televizor ca „activând telomerazele”. Câţi oameni înţeleg asta? Pur şi simplu sună ştiinţific, mai ales cu publicitarii purtând un halat alb de laborator, menit să motiveze oamenii să cumpere produsul aproape ca un medicament - dar promisiunea nu este adevărată.

Telomerazele în cercetarea cancerului au fost mult timp prost înţelese, deoarece majoritatea studiilor privind cancerul uman sunt efectuate cu şoareci ca model animal, însă şoarecii au tumori fără nicio contribuţie din partea telomerazelor. Aceasta ridică întrebarea dacă şoarecii sunt modele tumorale bune. Dar acestea sunt dificil de înlocuit.

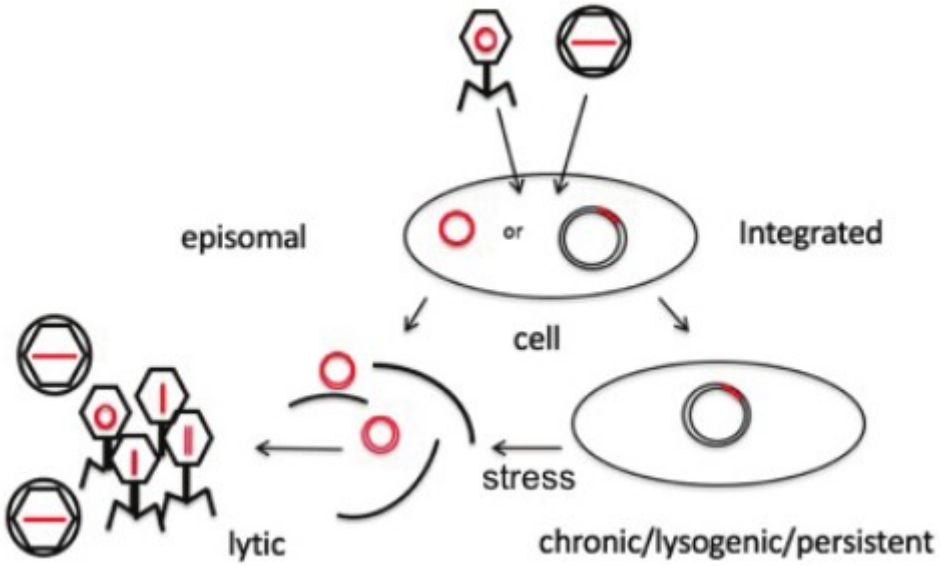
Elizabeth Blackburn, din San Francisco, şi fostul ei student Carol Greider au primit Premiul Nobel pentru descoperirea *telomerazei*, împreună cu Jack W. Szostak. Într-un singur experiment, Szostak a demonstrat că capetele *telomerice* protejate sunt un fenomen general (el a demonstrat acest lucru la o mică specie vie unicelulară, *tetrahymena*, apoi şi la drojdie, şoareci şi broaşte). El a înfiinţat recent un „centru de putere intelectuală” pentru ca cercetătorii să aplice abordări evolutive, să „depăşească natura” prin aplicarea tehnologiilor evolutive. Abordarea utilizării biotehnologiei evolutive pentru îmbunătăţirea substanţelor chimice a fost dezvoltată iniţial de Manfred Eigen. Szostak încearcă, de asemenea, să umple picături lipidice pentru a afla ce face ca picăturile să se dividă - un model care include unde oscilatorii pentru diviziunea celulară.

Nu este atât de frecvent ca un Premiu Nobel să fie acordat „de două ori”, pentru două molecule atât de strâns legate ca TERT şi RT. Poate că asemănările nu au fost observate iniţial. Recent, au început să se acumuleze dovezi conform cărora *telomerazele* pot transcrie ARN în ARN şi pot repara ADN defectuos - funcţii care nu sunt evidente pentru o telomerază.

Am folosit structurile telomerice, aşa-numitele pseudonoduri, pentru a face nodurile mai strânse şi pentru a bloca *telomerazele*, ca o abordare anti-cancer. În studiile pe şoareci am reuşit, cu ajutorul lui Elizabeth Blackburn, să oprim creşterea tumorilor (melanom malign). Tom Cech analizează, de asemenea, *telomeraza*. Odată l-am întrebat destul de prostеşte dacă *telomeraza* are o RNază H - încă sunt jenat de această întrebare, pentru că ar fi trebuit să ştiu: Răspunsul este nu - niciun primer ARN nu trebuie să fie eliminat de o RNază H. ADN-ul este alungit, iar ARN-ul rămâne fixat pentru a fi copiat în vederea creşterii lanţului ADN. Şapte nucleotide ARN (TTAAGGG) sunt copiate de până la o mie de ori, alungind telomerul. Tom Cech mi-a explicat, de

asemenea, că el crede că RT este mai vechi decât telomeraza: RT-urile sunt peste tot, iar telomerazele sunt mai specializate şi au apărut mai târziu în evoluţie. Sau invers?

Interesant este faptul că insectele au dezvoltat o altă procedură pentru a-şi proteja capetele cromozomilor: folosesc *transpozoni* ca fragmente scurte de ADN mobil care migrează şi se leagă de capetele cromozomilor. Acest lucru seamănă cu alungirea părului la coafor fără creşterea părului. Cu toate acestea, chiar şi *transpozonii* poartă o enzimă, *transpoza*, care este înrudită cu *telomeraza* şi *transcriptaza inversă*, una este fixată la telomeri în timp ce cealaltă este mobilă. Telomerazele sunt transpozoane degenerate? Pentru a proteja capetele cromozomilor au evoluat diverse mecanisme - toate legate de retrovirusuri şi de *transcriptaza lor inversă*.



Ciclul de viaţă al unui fag sau virus în interiorul celulei, integrarea sau starea episomală (separată) a ADN-ului, mediul conduce fie la o stare cronică, lizogenă sau persistentă (dreapta), fie la o stare litică indusă de stres cu eliberarea progeniturilor (stânga).

Virușii ca nuclee celulare?

Eucariotele conţin nuclee care le-au dat numele. Prin analogie, bacteriile, care nu au nucleu, sunt numite procariote.

Bacteriile şi celulele s-au topit printr-o simbioză. Cele mai cunoscute exemple în acest sens sunt mitocondriile, care sunt bacterii endogenizate şi degenerate şi nu mai pot părăsi niciodată celula. Ele au cedat 90% din genele lor nucleului celulei gazdă. De asemenea, unele gene s-au pierdut. Mitocondriile au păstrat doar 300 de gene din cele 3.000 de gene anterioare. Au devenit extrem de specializate, centrala celulei, furnizându-i energie. Tot restul de care au nevoie le este furnizat de celulă.

Observăm aici un principiu general: simbioză cu pierdere de gene în beneficiul specializării. Ceva asemănător s-a întâmplat cu *cianobacterii*, care au fost preluaţi de plante şi astăzi ca *cloroplaste* s-au specializat în fotosinteză. Acest lucru s-a întâmplat doar de două ori pe planeta noastră - surprinzător de rar, mai ales dacă o celulă are atât de multe de câştigat din asta.

Poate că acest lucru s-a întâmplat a treia oară, până la urmă. Cine a furnizat nucleele eucariotelor? Există candidaţi viruşi, cum ar fi *poxvirusurile*. Chiar şi astăzi, un *retrovirus* se poate integra ca provirus ADN într-un ADN *poxviral*. Integrarea are loc în interiorul nucleelor la fiecare infecţie cu *retrovirus*. De asemenea, virusurile herpetice sunt uneori discutate ca posibili candidaţi pentru nuclee. Un alt candidat ar fi un pseudo-retrovirus, cum ar fi virusul hepatitei B. ADN-ul său nu se integrează în mod normal în cel al gazdei, dar ar putea permite integrarea ADN-urilor retrovirale sau a altor ADN-uri. Un astfel de ADN ar putea duce la integrarea mai multor *retrovirusuri*. Integrarea provirusurilor ADN de la retrovirusuri în genomul nostru la un moment dat

în trecut poate fi detectată astăzi. Până la 50% din genomurile noastre sunt legate de retrovirușI integrați. Acestea ne-au construit genomul - și nucleul?

Până acum nu am discutat de unde au apărut primele celule. Acestea sunt denumite LUCA, ultimii strămoși comuni (sau celulari) universali. A fost un virus un precursor al LUCA? Virușii au furnizat nu numai nucleele, ci, eventual, întreaga celulă?

Virusurile gigantice, care vor fi discutate în detaliu în continuare, întăresc suspiciunea că virusurile ar putea fi precursorii celulelor. Dacă LUCA a fost un virus, atunci ar trebui numit LUCAV, V de la virus, așa cum a propus Eugene Koonin de la NIH, Bethesda, SUA. El nu se referă la un pre-virus, nu la o singură secvență virală, ci la un amestec de mai multe secvențe virale diferite, care amintește de cvasi-speciile lui Manfred Eigen. Cu toate acestea, Eigen nu crede că virușii au ajuns primii acolo și că au fost importanți la începutul evoluției. Bacteriile sunt viruși umflați? Cele mai recente analize susțin această idee, deoarece există un spectru foarte larg, de la viruși minusculi la viruși gigantici; cei din urmă sunt chiar mai mari decât unele celule bacteriene. La fel ca Eugene Koonin de la Bethesda, Luis P. Villarreal din California a fost mult timp un susținător al conceptului *virus-first*, evoluția de la virusuri la celule. Primele celule și viruși semănau între ei, un mic sac format din membrane lipidice și umplut cu un număr tot mai mare de biomolecule, primele biomolecule ale vieții. Tranziția nu este bruscă, ci mai degrabă treptată, astfel încât nu trebuie să fim dogmatici dacă prima structură simplă a fost un virus sau o celulă.

Virusuri pentru detectarea virușilor – PCR

Transcriptaza inversă este esențială nu numai pentru replicarea retrovirușilor și pentru evenimentele de tip „*copy-and-paste*” care au loc în genomul nostru ADN, ci și în viața de zi cu zi în laborator. *Transcriptaza inversă* RT este importantă pentru „*reacția în lanț a polimerazei*” (PCR), un sistem de amplificare. Această amplificare seamănă cu o replicare simplificată a unui virus în eprubetă, unde genele sunt amplificate exponențial. Această tehnică a revoluționat domeniul diagnosticului, deoarece este de departe cea mai sensibilă metodă de detectare a acizilor nucleici din microorganisme, virusuri, bacterii, celule tumorale, orice mostră de țesut, fosile, mumii, păr de bizon stins etc. Pot fi detectate chiar și mutațiile - modificări genetice unice. Multe vizite de rutină la cabinetul medical includ această reacție pentru diagnosticare sau pentru monitorizarea stării unei boli sau a răspunsului la terapii, deoarece reacția este, de asemenea, extrem de rapidă. Se pot produce cantități de micrograme, suficiente pentru metodele de colorare care permit „observarea” ADN-ului amplificat. Apoi, ADN-ul amplificat este supus unei analize suplimentare (secvențiere). Există o variație: Dacă materialul de plecare este ARN, atunci se include un RT pentru a produce ADN - la fel ca în cazul replicării retrovirusurilor. Cantitatea de ARN reflectă activitatea unei gene, ceea ce este informativ pentru cercetare și medicină. Expresia anormală poate fi un indicator al unei boli. Prin urmare, este important ca reacția să poată fi efectuată cantitativ în timp real și, într-adevăr, „**qRT-PCR**” este o metodă de analiză utilizată foarte frecvent. „Profilul de expresie” este denumirea acestei analize, efectuată pentru a determina activitatea tuturor genelor unei celule. Sensibilitatea sa este enormă și, de exemplu, în contextul HIV, sarcina virală poate fi detectată până la un nivel de sensibilitate de 20 de copii virale pe mililitru. Aceasta este ceea ce ziarele descriu drept „vindecare”; nu este o vindecare reală, dar cantitatea de viruși este sub nivelul de detecție. Trucurile tehnice fac reacțiile mai rapide și mai specifice, iar enzimele termostabile pentru reacția de copiere permit amplificarea complet automată. Enzima provine de la o fântână *geyser* fierbinte de 60 de grade din Parcul Național Yellowstone, dar și de la numeroase izvoare termale. Un cercetător care încerca să prindă bacterii rezistente la căldură de pe marginea unui izvor fierbinte similar pentru a izola RT termostabil a alunecat și și-a pierdut piciorul - o poveste tristă dacă este adevărată. Denumirea enzimei este *Taq-polimeraza*, Taq reprezentând bacteria iubitoare de căldură *Thermos aquaticus* (nu un archaeum).

Metoda este atât de sensibilă încât poate amplifica cantități de acizi nucleici atât de mici încât acestea ar putea fi irelevante - sau nu ar putea fi legate de boli - încă! Astfel, sensibilitatea extrem de ridicată ar putea fi contraproductivă, iar încrederea oarbă în această metodă ar putea fi

greșită sau chiar periculoasă. Într-adevăr, nu știm dacă mici cantități de agenți patogeni sau chiar de celule canceroase pot fi eliminate de sistemul nostru imunitar și nu ne-ar îmbolnăvi niciodată - dar ar putea fi detectate prin PCR și ne-ar putea îngrijora.

Cu toate acestea, ne-a ajutat odată să găsim o scurgere într-un dulap de siguranță pentru fragmente periculoase de ADN HIV care scăpaseră din eprubete și, deoarece dezvoltam un vaccin HIV pe bază de ADN, am fost cu toții vaccinați de ADN-ul din aerul din laborator. PCR ne-a ajutat să observăm că a existat o scurgere. Într-un exemplu recent mai cunoscut, regele Richard al III-lea al Angliei a fost identificat într-un mormânt aflat sub o parcare din Leicester prin compararea ADN-ului său cu cel al membrilor actuali ai familiei regale, utilizând PCR. Firele de păr sunt suficiente pentru a reconstitui arborele filogenetic al mamuților și pentru a reconstitui rutele de migrație ale primilor hominizi din eșantioane mici de oase. Chiar și alimentele pot fi reconstituite cu mii de ani în urmă. La fel și microorganismele găsite în smogul din New Delhi sau Pekin. PCR a revoluționat căutarea criminalilor și a ucigașilor, o pată de lichid corporal sau un fir de păr fiind suficiente pentru a identifica o persoană. Toate acestea sunt posibile datorită PCR.

Metoda a provocat unele dezbateri, deoarece mai mulți oameni de știință au susținut că au descoperit-o primii - apoi a fost uitată și redescoperită și rafinată ulterior. Aceasta a fost descoperirea finală. Hoffmann-La Roche deține brevetele și face bani cu ele, dar pentru cercetare metoda este disponibilă gratuit. Descoperitorul a fost un pic neortodox și a fost concediat după mai mulți ani pe care i-a petrecut dezvoltând această tehnologie la Cetus Co. Aceștia i-au plătit 10.000 de dolari, iar mai târziu au vândut tehnologia companiei Hoffmann-La Roche pentru 300 de milioane de dolari - mi s-a spus. Totuși, dreptatea a învins în cele din urmă, iar excentricul inventator, Kary Mullis, a primit Premiul Nobel pentru Chimie în 1993. În discursul său de acceptare, el a vorbit despre regretul său că Premiul Nobel i-a distrus relația cu prietena sa! *The New York Times* a scris că metoda sa a împărțit biologia și medicina în două epoci: una înainte și una după inventarea PCR.

4. Virușii și cancerul

Diavolul tasmanian

O notă importantă pentru început: cancerul nu este o boală infecţioasă. Acest lucru este foarte important pentru cei care se ocupă de pacienţii cu cancer - așa că nu vă faceți griji.

Este într-adevăr adevărat? Întotdeauna? Există excepţii? Din păcate, se pare că există câteva: *Diavolii tasmanieni* sunt printre puţinele excepţii. Aceste animale au fost investigate cu atenţie pentru a afla de ce tumorile lor sunt infecţioase. Se mușcă între ele cu sălbăticie și arată înfricoșător - ca nişte diavoli! Prin muşcăturile pe care şi le dau reciproc în faţă, provoacă cancer facial la 90% dintre victimele lor. Aceste animale sunt pe cale de dispariţie. Surprinzător, până în prezent nu a fost detectat niciun agent contagios, cum ar fi un virus. Motivul pentru care acestea transmit cancerul este că sunt deja bolnave de la bun început. Au un sistem imunitar compromis, astfel încât celulele transmise prin mușcături de la un animal la altul nu sunt recunoscute ca străine, ci sunt „tolerate” de sistemul imunitar al animalului mușcat. Analizele recente de secvenţiere a genomului au arătat că toți *diavolii* sunt foarte interconectați. Celulele de la alte animale sunt în mod normal recunoscute ca străine de sistemul imunitar și sunt respinse. Nu și aici. Prin urmare, celulele tumorale pot fi transmise și pot duce la noi tumori. Comportamentul furibund de mușcătură duce la răni sângeroase, astfel încât celulele tumorale ajung direct în fluxul sanguin. Celulele tumorale ajung imediat în toate regiunile corpului, precum metastazele. Acest rezultat este o mare ușurare pentru toți cercetătorii cancerului, deoarece înseamnă că *diavolii tasmanieni* reprezintă un caz cu adevărat special. Așadar, totul se potrivește din nou: cancerul nu este transmisibil. Nu în mod normal.

Asemănători *diavolilor* sunt pacienții umani care sunt suprimați imunitar pentru transplantul de organe. La un pacient, un organ străin nu este în mod normal „însușit”, ci respins din cauza markerilor individuali de suprafață celulară, moleculele Complexului Major de Histocompatibilitate (MHC), care nu sunt compatibile. Pacientul trebuie să fie *imunosupresat*, pentru a permite acceptarea și supraviețuirea transplantului. Acest lucru este deja prezent la *diavolii tasmanieni*.

Cercetătorii folosesc șoareci fără sistem imunitar ca model animal pentru studierea celulelor canceroase. Șoarecii au un defect genetic care duce la pierderea celulelor T, componente ale sistemului imunitar, precum și a părului corporal, ceea ce le-a dat porecla „nude”. Spre deosebire de șoarecii normali, șoarecii nuzi pot fi injectați cu celule tumorale, iar acestea nu sunt apoi respinse, ci se dezvoltă în tumori, chiar dacă pot proveni de la alte specii îndepărtate, cum ar fi oamenii. Noi, ca aproape toți cercetătorii în domeniul cancerului, am folosit acești șoareci în mod obișnuit. Unii alți șoareci de laborator speciali sunt șoarecii SCID, care permit testarea celulelor tumorale străine: SCID vine de la *Severe Combined Immune Deficiency* - o boală care poate apărea și la oameni (oarecum asemănătoare cu SIDA). Astfel de pacienți trebuie să trăiască în condiții sterile, în corturi speciale, pentru a evita riscul de infectare. De asemenea, acești șoareci sunt dificil de crescut. Până în prezent, nu am luat în considerare utilizarea *diavolilor tasmanieni* ca modele animale pentru studierea celulelor canceroase umane - sunt prea furioși și, într-adevăr, diabolici. Se cunosc doar alte două animale cu tumori transmisibile în mod natural, una la câini (*Canine Transmissible Venereal Tumor,* CTVT), care se transmite pe cale sexuală și le afectează organele sexuale, și una la hamsteri - ambele pot semăna cu boala genetică a *diavolilor.*

Oncogene retrovirale

În special *retrovirusurile* i-au învățat pe cercetători cum virusurile pot contribui la apariția tumorilor. Prin urmare, astfel de *retrovirusuri* sunt denumite și virusuri tumorale. Acestea poartă gene canceroase sau oncogene. În consecință, mulți retrovirologi se consideră cercetători ai cancerului - așa cum fac și eu. Mulți dintre acești viruși sunt tulpini de laborator și apar rar la om, iar dacă apar, atunci numai în combinație cu alți factori, care atunci, împreună, cauzează cancer - adesea după zeci de ani. Cu toate acestea, ele pot provoca cancer la animale, șoareci, pisici, vaci, chiar și la plante, precum și la maimuțe.

Sunt cunoscute aproximativ 100 de oncogene virale. Toate se caracterizează în principal prin capacitatea lor de a stimula creșterea celulară. Cele care nu induc avantaje de creștere, sau chiar suprimă creșterea, nu se manifestă atât de ușor și sunt adesea trecute cu vederea. Virusurile tumorale pot duce la apariția unor mici grămezi de celule în vasul de cultură, „mini-tumori" denumite *foci*.

Acestea pot fi suficient de mari pentru a fi văzute cu ochiul liber. Cercetătorii au ales cele mai mari focare și au selectat astfel virusurile cu cele mai puternice oncogene care favorizează creșterea. La animale, virușii cu cei mai „buni" oncogeni au provocat cele mai mari tumori. Acești viruși ne-au ajutat pe noi, cercetătorii, să selectăm cele mai periculoase gene ale cancerului, care acum - după aproximativ 40 de ani - sunt adesea folosite de industrie ca fiind cele mai bune ținte pentru terapiile anticancer, care au condus într-adevăr la cele mai eficiente medicamente de astăzi. Modul în care oncogenele de eprubetă joacă un rol în cancerele umane necesită explicații, vă rugăm să așteptați.

Celulele normale se opresc din creștere de îndată ce își ating celulele vecine. Acest fenomen este bine cunoscut de toți cei care lucrează în bucătărie, unde o tăietură la deget este vindecată de celulele în creștere, care se opresc din diviziune de îndată ce ating celulele vecine; acest fenomen se numește inhibiție de contact. Acest semnal de oprire lipsește în cazul celulelor tumorale, care continuă să crească unele peste altele - un aspect important al creșterii celulelor tumorale.

A existat o lungă căutare pentru a înțelege de unde provin oncogenele virușilor tumorali: din interiorul sau din exteriorul unei celule. Pentru a răspunde la această întrebare, cercetătorii au trebuit mai întâi să învețe despre schimbul de gene între virusuri și celule, transferul orizontal de gene (HGT). Acesta este un proces prin care genele sunt transferate în ambele sensuri: genele din interiorul celulei ies prin intermediul virușilor, iar virușii le pot transfera înapoi în interiorul celulelor noi prin infectare. Genele virale nou dobândite pot fi depuse prin integrare în genomul celulelor. Astfel, transferul de gene are loc în ambele direcții. Genele preluate de viruși sunt gene celulare aleatorii - inițial. Atunci când noi, experimentatorii, am selectat o creștere celulară sau tumorală rapidă, am ajuns la viruși care au gene speciale, gene care conferă celulelor cele mai mari avantaje în creștere - o caracteristică a cancerului. Un fenomen suplimentar joacă un rol. Frecvența ridicată a mutațiilor virușilor a contribuit și mai mult la obținerea celor mai eficiente gene cancerigene care favorizează creșterea. Mutațiile apar în timpul replicării virusului prin intermediul *transcriptazei inverse*, care este foarte predispusă la erori, „neglijentă". În timpul fiecărei replicări, apar aproximativ 10 mutații în 10 000 de nucleotide, dimensiunea unui retrovirus. Această rată mare de eroare face ca virusurile care conțin ARN să fie atât de inventive. Mutageneza face parte din strategia de supraviețuire a virușilor. Mutațiile au crescut oncogenitatea oncogenelor. Celulele cu genom ADN, cum ar fi celulele noastre, au dezvoltat mecanisme de corectare care previn în mare măsură mutațiile. Acest lucru este bun pentru noi, pentru că altfel am avea șanse mai mari de a face cancer. Genele celulare sunt cunoscute prin abrevierea **c-onc** (sau **proto-onc**), iar în urma mutațiilor provocate de virus sunt denumite oncogene virale **v-onc** (sau **viral-onc**) - care sunt oncogenele „mai bune", deoarece sunt mai puternice. Astfel, oncogenele provin din interiorul celulei, dar virusul le modifică. Un proiect uriaș de secvențiere a fost realizat de Centrul de Secvențiere Sanger din Cambridge, Marea Britanie, în cadrul căruia celulele tumorale au fost analizate pentru a găsi gene canceroase. Oamenii au 20.000 de gene. Câte dintre acestea sunt gene canceroase? Cercetătorii au detectat sute dintre acestea, dar, în mod interesant, cele mai eficiente au fost adesea oncogenele virale pe care cercetătorii le-au selectat și izolat. Astfel, virușii, și nu mașinile de secvențiere, au fost cei care ne-au ajutat să găsim oncogenele. În plus, acestea au fost descoperite mai întâi cu virusuri

tumorale în laborator, iar mai târziu în cancerul uman - independent de virusuri. Aproximativ o duzină dintre acestea sunt astăzi ţinte pentru medicamente destul de promiţătoare împotriva cancerelor umane. Virusurile ne-au învăţat care sunt cauzele cancerului. În prezent, cunoaştem aproximativ 100 de oncogene provenite de la retrovirusuri. Cum cauzează acestea cancerul? Poate merită să ne uităm la descoperirea primului oncogen - gena „*sarcoma*” sau „**src**”; aceasta face parte din virusul Rous Sarcoma RSV, care provoacă tumori la pui. Iată povestea descoperirii sale.

Saga sarcomului

Peyton Rous, descoperitorul primului virus tumoral, a renunţat. La fel ca Galileo Galilei, care a minţit în faţa Inchiziţiei pentru a-şi salva viaţa şi şi-a abandonat cercetările, Rous a pus capăt cercetărilor sale asupra cancerului sub presiunea colegilor săi. Aceştia nu au putut reproduce rezultatele sale şi, în loc să rezolve problema, Rous a încetat pur şi simplu să se mai deranjeze! Cu aproximativ 100 de ani în urmă, el demonstrase că cancerul se poate transmite, ca o boală infecţioasă, la găini. Un fermier i-a adus puiul său cu o tumoare mare la Universitatea Rockefeller din New York. Fermierul se temea că şi alte găini ar putea fi infectate. Rous era un patolog cu experienţă şi a diagnosticat un *sarcom*. El a izolat tumoarea, a omogenizat celulele, le-a filtrat şi a injectat fluxul în pui sănătoşi. A apărut o nouă tumoare. Acest lucru a îndeplinit „primul postulat” al lui Robert Koch, pe care Koch l-a inventat în jurul anului 1880, conform căruia un agent izolat poate fi considerat cauza unei boli numai dacă este capabil să provoace aceeaşi boală din care a fost izolat prima dată. Rous vorbea despre un „agent filtrabil’’ nu despre un virus. El a publicat acest rezultat în 1911. Rezultate similare au fost obţinute în acelaşi timp pentru leucemii şi publicate în 1908 de doi oameni de ştiinţă danezi, Vilhelm Ellermann şi Oluf Bang. Problema a fost că nimeni nu a putut reproduce rezultatele lui Rous. La acea vreme, nimeni nu ştia despre rezistenţa genetică împotriva viruşilor şi a cancerului. Concurenţii săi folosiseră pui diferiţi care erau rezistenţi împotriva agentului tumoral. Simplu astăzi. Acesta a fost un ghinion pentru Rous şi nu a înţeles ideea.

Am făcut-o şi eu, 80 de ani mai târziu, fără să ştiu de problemele Rouss. Ce pacoste! Am încercat să cultiv un virus al leucemiei la găini pentru a izola cantităţi mari în vederea cercetărilor pentru izolarea *transcriptazei inverse*, ceea ce am reuşit să fac luni de zile. Cu toate acestea, după mutarea laboratorului meu de la Institutul Max Planck din Tubingen la Institutul Robert Koch din Berlin, nimic nu a mai funcţionat. Puii pur şi simplu nu s-au îmbolnăvit, iar virusul nu s-a replicat. Disperat, am comandat pui de la furnizorul iniţial, o fermă situată la un castel din apropiere de Tubingen - chiar dacă acest lucru însemna un transport complicat de mii de pui de o zi cu zboruri Pan Am către Berlin, deoarece Berlinul (de Vest) era în acele zile o entitate politică izolată în mijlocul fostei Germanii de Est. Cu puii de la vechiul furnizor, infecţia a funcţionat din nou. Puii s-au îmbolnăvit din nou de virus (denumit virusul mieloblastozei aviare, AMV) şi au produs cantităţi enorme - vizibile - de virus. Mulţi ani mai târziu a început cercetarea HIV. Din nou, s-a recunoscut mai întâi cu oarecare surprindere că există oameni rezistenţi: 15% dintre europeni nu se infectează, din cauza rezistenţei genetice, deoarece au un receptor de intrare virală defect (CCR5delta32).

Rous şi colegii săi nu s-au gândit că au folosit puii „greşiţi”. De fapt, este posibil ca această cunoaştere să nu-l fi ajutat pe Rous, deoarece cu astfel de excepţii nu ar fi existat nicio încredere în ideea sa. El a renunţat! Nu a înţeles importanţa observaţiei sale privind o tumoare transmisibilă la animale! Ulterior, el a devenit totuşi „părintele virusurilor tumorale”, iar primul virus tumoral descoperit a fost denumit în onoarea sa virusul sarcomului Rous (RSV). În 1966 a primit Premiul Nobel, la 55 de ani de la descoperirea sa, când avea 87 de ani. Fusese nominalizat pentru acest premiu cu 40 de ani înainte, dar fără succes. El a stabilit o metodă de cultivare a virusurilor în membrana corio-allantoică a ouălor de găină (aproape de mica bulă de aer) - şi această metodă de modă veche este utilizată şi astăzi pentru producerea a milioane de doze de vaccin împotriva virusului gripal - greu de crezut. În anii '70, la Institutul Robert Koch din Berlin, am folosit această tehnică chiar şi pentru a testa un presupus caz de alarmă de pojar, folosind o mică moară pentru a

deschide coaja, a introduce proba suspectă, a închide din nou coaja şi a incuba oul pentru a permite virusului să se dezvolte - acestea cresc ca nebunele într-un astfel de mediu hrănitor!

Proteina virală **v-Src** este multifuncţională. Mai multe etape de dezvoltare ale formării tumorilor sunt realizate de această moleculă multifuncţională unică. **v-Src** este mai scurtă la terminaţia sa decât proteina celulară analogă **c-Src** - trunchierea se ridică la şapte din cei 536 de aminoacizi. Aceasta pare o modificare foarte mică, dar viruşii găsesc întotdeauna soluţii simple, iar mica *deleţie* are consecinţe uriaşe: pierderea legăturii cu partea interioară a suprafeţei celulare, cauzând creşterea necontrolată a celulelor şi cancer. Chiar şi pierderea unui singur aminoacid la sfârşit are consecinţe dramatice: comportamentul metastatic al celulei. Am detectat acest lucru şi l-am găsit atât de surprinzător şi greu de crezut încât l-am analizat. Am atribuit acest lucru pierderii legăturii cu un supresor tumoral, care este o consecinţă dramatică, ducând la pierderea contactului de interacţiune celulă-celulă, permiţând celulelor să fugă în locaţii noi şi provocând metastaze. Următoarea surpriză a fost că această mică pierdere a unui singur aminoacid a dus la modificări în aproximativ o sută de alte funcţii celulare. (Am demonstrat acest lucru prin analiza „profilului de expresie” al celulei metastatice. Procedura este descrisă în *capitolul -omics*).

Proteina **v-Src** este intensificată în continuare de promotorii virali (**long terminal repeats** LTRs). Acestea determină supraexprimarea oncogenei - un efect de doză periculos. În mod normal, promotorii direcţionează replicarea virusului în interiorul celulelor, ocolind funcţiile celulare, aşa-numitul comportament egoist al viruşilor. Aceşti promotori virali sunt cei mai puternici cunoscuţi în întreaga biologie; ei suprareglează genele virale, supradozând astfel puternic oncogenul „promovând” cancerul. Ei sunt instrumentele preferate pentru expresia genelor în toate laboratoarele de biologie moleculară.

Proteina **Src** a devenit un oncogen model, investigat de John Mike Bishop şi asistentul său postdoctoral de atunci, Harold Varmus, în San Francisco, în anii 1970, în efortul lor de a înţelege cancerul. Ei au încercat să găsească originea **Src** şi au descoperit-o peste tot - de la muşte la elefanţi, în celule normale, complet independent de orice cancer. Acest lucru era enigmatic şi părea să sugereze o eroare sistematică. Aceştia şi-au retras lucrarea, care fusese acceptată pentru publicare şi care făcea deja turul laboratorului nostru de la Institutul Max Planck pentru Virusologie din Tübingen.

Problema era că tehnologiile nu permiteau să se facă distincţia între o genă **src** normală şi o genă oncogenă: versiunea oncogenă puţin mai scurtă arăta la fel. Ei au rezolvat problema şi au primit Premiul Nobel în 1989 pentru munca lor. Am fost prezent la sărbătorirea lor în Cold Spring Harbor Laboratory. Mike cu un smoching şi un manuscris - de care, în mod normal, nu avea niciodată nevoie pentru o prezentare. Pe Varmus mi-l amintesc mergând cu bicicleta la întâlnirile din Europa şi ajungând ud leoarcă - cu mai multă energie decât par să aibă majoritatea oamenilor! Amândoi mi-au vizitat laboratorul din cadrul Institutului Max Planck din Berlin şi m-au întrebat despre porcii sălbatici din Grunewald, menţionaţi într-un ghid de călătorie - nimeni nu m-a mai întrebat vreodată despre ei. Apoi a existat contribuţia lui Peter Vogt din Los Angeles, care a furnizat virusul sarcomului Rous. De asemenea, berlinezul Peter Duesberg împreună cu Steve Martin, ambii astăzi la Berkeley, au arătat într-un experiment important că un **Src** inactivat modificat genetic nu provoacă tumori. Aceasta a fost dovada dură finală. Peter Duesberg este avocatul diavolului, care subliniază întotdeauna opusul a ceea ce crede comunitatea de cercetare (amintindu-mi de Mefistofel din Faust al lui Goethe). A avut dreptate de mai multe ori, dar a greşit teribil când a respins ideea că HIV este cauza SIDA. Îmi amintesc că a spus acest lucru în faţa a sute de studenţi în timpul unei discuţii pe podium la Universitatea Humboldt din Berlin - un punct de vedere pe care l-am considerat periculos şi înşelător. Am petrecut mult timp discutând, niciodată de acord, dar întotdeauna prieteni.

Oncogene virale fără virusuri - un paradox?

Retroviruşii pot provoca cancer chiar şi fără un oncogen. Integrarea unui provirus ADN în genomul celular este extrem de periculoasă pentru celulă. Oriunde are loc integrarea, aceasta are loc la întâmplare şi poate duce la efecte „genotoxice”, deteriorând genele noastre, ADN-ul. Aceştia sunt printre cei mai importanți factori care pot duce la apariția cancerului: stilul de viață și factorii de mediu, cum ar fi fumatul de țigară, alcoolul, otrăvurile, gazele de eșapament ale mașinilor, contaminările, radioactivitatea și (deși mai puțin în prezent) fumul din coșurile de fum. Mulți curățători de coșuri de fum au murit de cancer la testicule - acesta este modul în care agenții cancerigeni de mediu au fost observați pentru prima dată. Mai recent, unele bacterii din stomac au fost identificate ca fiind potențial cancerigene. Nu cunoaștem încă toți factorii. De asemenea, nu cunoaștem efectul punctelor temporale de expunere, dependența de doză sau combinațiile de factori.

Virusurile tumorale ne-au învățat cum poate apărea cancerul prin intermediul oncogenei. Este paradoxal faptul că virusurile tumorale ADN cele mai bine studiate sunt virusuri animale care, în mod normal, nu provoacă boli la om: virusul simian 40 (SV40) și virusurile polioma (PY), ambele nefiind asociate în mod normal cu cancerele umane, dar ambele au fost extrem de importante pentru a ne ajuta să înțelegem mecanismele moleculare ale transformării maligne. Motivul simplu pentru aceasta a fost disponibilitatea unor sisteme bune de cultură celulară și animală. De asemenea, am învățat de la acești viruși că numai în cazuri rare provoacă tumori, în așa-numitele celule nepermise, în care virușii nu se replică, ci își integrează genomul în celula gazdă. În celulele permisive, virusurile se replică și lezează celulele, eliberând particulele virale descendente fără cancer. Integrarea în celulele nepermisive este periculoasă și poate favoriza apariția cancerului în celulele animale. Integrarea este, de asemenea, semnul distinctiv al oncogenității retrovirușilor, chiar și în absența unui oncogen, mediată apoi de promotorii lor puternici, LTR-urile, care garantează în mod normal expresia virusului, dar pot ajunge mai departe la genele adiacente și le pot încurca expresia. Genele supraexprimate sau dereglate conduc la o doză greșită sau la o activare la un moment nepotrivit. Acest fenomen este denumit „mutageneză inserțională” sau „promovare în aval”. Abia recent s-a descoperit că genomul nostru este plin de promotori virali „**solo-LTRs**”, care sunt rămășițe minime ale inserțiilor retrovirale care au avut loc cu până la 100 de milioane de ani în urmă! Avem aproximativ 0,5 milioane de astfel de solo-LTRs, restul virușilor fiind pierduți. Acest lucru este un pic înspăimântător, iar cercetătorii se întreabă în prezent dacă acestea mai pot provoca cancer. Celulele noastre pot contracara și „reduce la tăcere” activitatea lor, în special în timpul embriogenezei, ca măsură de siguranță pentru generația următoare. Este suficient?

Dar acum apare adevăratul paradox: atunci când au fost analizate celulele canceroase umane, mulți dintre oncogenele cunoscute de cercetători din studiul oncogenelor retrovirale (**v-oncs**), au fost detectate în cancerele umane - fără niciun semn al virușilor tumorali. Acest lucru pare ciudat, dar explicația este simplă: celulele tumorale cresc în mod normal mai repede decât celulele normale, indiferent de stimuli - indiferent dacă inițiatorii sunt carcinogeni chimici, fum de țigară, defecte genetice, stil de viață, oncogene virale sau promotori virali. Astfel, orice genă celulară mutantă poate duce la o creștere celulară crescută - un semn distinctiv al cancerului. Ceea ce contează este rezultatul, nu cauza (nu virusul!).

Virușii și cancerul

Virușii pot contribui la apariția cancerului, dar nu acționează niciodată singuri.

Membrii a șase familii distincte de viruși sunt capabili să contribuie la apariția cancerului la om. Aproximativ 15-20% din cancerele umane implică viruși drept „cofactori” - un cuvânt care trebuie subliniat.

Virusurile cuprind: un retrovirus rar, virusul leucemiei umane cu celule T (HTLV-1, înrudit la distanţă cu HIV); virusul hepatitei B (HBV, un pararetrovirus) şi virusul hepatitei C (HCV, un virus ARN), ambele cauzând cancer hepatic; doi papilomavirusuri umane (HPV) care duc la apariţia cancerului de col uterin şi a altor tipuri de cancer genital; virusurile herpetice, cum ar fi virusul Epstein-Barr (EBV), contribuie la două tipuri de tumori: Limfomul Rurkitts (BL) în Africa şi carcinomul nazofaringian al nasului în China (EBV contribuie, de asemenea, la mononucleoză, care nu este un cancer); şi herpesvirusul asociat sarcomului Kaposi (denumit şi herpesvirus uman 8, HHV-8).

HIV nu este un virus cancerigen, dar cooperează cu alţi viruşi şi factori, crescând doar indirect riscul de cancer. Singurul retrovirus uman cunoscut care provoacă cancer este HTLV-1. Acesta este endemic în Japonia şi poate duce la o boală fulminantă, leucemia cu celule T adulte (ATL), iar în Africa la o parapareză spastică tropicală (TSP). În Japonia, virusul se transmite prin laptele matern şi poate fi uşor evitat prin educarea mamelor pentru a evita alăptarea. Virusul are un fel de oncogen excepţional, **Tax**, care nu este legat de o genă celulară, aşa cum a fost descris mai sus pentru alţi oncogeni, dar care se comportă într-un mod similar: este un activator transcripţional şi activează genele celulare, conducând la o buclă chimică puternică formată dintr-un factor de creştere şi receptorul său. Această combinaţie stimulează creşterea celulară. Se crede că **Tax** joacă un rol în *seminom*, o tumoare non-malignă la bărbaţii tineri, care este adesea recunoscută în cadrul controalelor medicale preventive ale tinerilor recruţi militari. Alte retrovirusuri ale leucemiei sunt cunoscute la animale, cum ar fi oile, vacile sau şoarecii. Un virus al tumorii mamare la şoareci, dependent de hormoni, a fost studiat pe larg, dar nu a fost găsit niciodată în tumorile mamare umane. Eforturile de a dovedi existenţa sa au mers atât de departe încât Sol Spiegelman, din New York, a publicat balanţe cu numărători pe zece minute (în loc de numărătoarea convenţională pe minut), pentru a face datele să pară mai impresionante, sperând probabil că nimeni nu va observa. Noi toţi am observat! Iar el s-a înşelat! Niciun virus cancerigen - din câte ştim noi - nu cauzează cancerul de sân la om.

Caprele, oile şi caii se pot îmbolnăvi de retrovirusuri (virusul encefalitei artritice caprine şi virusul anemiei infecţioase ecvine), dar în mod normal nu mor din cauza acestora. Echivalenţii umani ai acestor virusuri animale nu au fost încă găsiţi. Surprinzător.

Virusurile canceroase umane importante sunt virusurile hepatitice VHB şi VHC, ambele cauzând cancer hepatic. Genomul VHB este format dintr-un ADN bicatenar cu unele zone monocatenare care par neterminate şi se replică prin intermediul unei *transcriptaze inverse*, la fel ca retrovirusurile, ceea ce a dus la denumirea de pararetrovirus. Principala diferenţă dintre cele două este ceea ce este împachetat în particulele virusului: retrovirusurile împachetează ARN, iar pararetrovirusurile împachetează ADN. Apoi, ciclurile de replicare sunt foarte asemănătoare. HBV nu se integrează în mod normal în genomul gazdei. Dacă face acest lucru împotriva regulii, atunci devine genotoxic şi foarte oncogen. VHB este susţinut de o inflamaţie cronică a ficatului - uneori potenţată de stilul de viaţă şi de alcoolism. Apoi, proteina X multifuncţională, un fel de oncogen, contribuie la apariţia cancerului. Cancerul cauzat de VHB este carcinomul hepatocelular (CHC), care este cel mai frecvent în anumite zone ale lumii prin contribuţia altor factori, cum ar fi aflatoxinele din China provenite de la ciuperca *Aspergillus flavusy* un contaminant al alimentelor. După cel de-al Doilea Război Mondial, răzuiam ciupercile de pe marmeladă sau tăiam ultima felie de pâine mucegăită. Acest lucru nu a fost suficient. Născut din cauza unei penurii de alimente, nu ar trebui să se repete, deoarece miceliul periculos nu este eliminat în acest fel: totul trebuie aruncat. Un vaccin împotriva VHB a fost primul vaccin de succes împotriva a două probleme, împotriva unui virus şi a cancerului. A fost, în plus, primul vaccin recombinant, produs prin tehnici de ADN recombinant în drojdie (se combină bucăţi de ADN) şi fără niciun pericol pentru receptor. Acest succes admirabil a fost obţinut de legendarul Maurice Hilleman de la compania Merck - care a dezvoltat şi o duzină de alte vaccinuri antivirale. El a salvat milioane de vieţi cu vaccinul hepatitei HBV - fără să primească Premiul Nobel. Vaccinul împotriva VHB a fost modelul pentru HIV, dar până acum a eşuat încă. HIV este foarte variabil, HBV nu este.

„Câți dintre voi au fost vaccinați împotriva VHB?” a fost întrebarea mea acum 20 de ani, când predam studenților la medicină din Zurich. Doar câțiva au fost vaccinați, dintr-o sută. Nepoata mea a plecat să lucreze la un spital din Anglia și i-am pus în bagaj seringa pentru a treia vaccinare necesară împotriva VHB. Nimănui nu i-a păsat atunci. Acum nu mai este o boală profesională acceptată dacă un lucrător medical este infectat. Vaccinul este acum obligatoriu pentru toți angajații din domeniul medical. Acesta ar trebui administrat tuturor, cu un test ulterior pentru verificarea răspunsului imun sau repetarea injecției - în special înainte de a călători în locuri îndepărtate.

Apoi apare virusul hepatitei C, VHC - o boală relativ nouă; este cauzată de un virus ARN și poate deveni cronică, ducând la cancer hepatocelular, CHC. Acesta a fost mult timp căutat ca un virus al hepatitei „non-A-non-B”. În cele din urmă, a fost identificat cu ajutorul cercetării publice, dar apoi a fost blocat de o companie americană în vederea continuării analizelor - o poveste teribilă, care a întârziat semnificativ cercetarea. Calea de transmitere nu este complet clară. Mulți nu știu cum ar fi putut dobândi o infecție cu virusul hepatitei C - prin contact cu sângele, prin utilizarea acelor sau chiar într-un anumit cadru clinic. În urmă cu aproximativ 40 de ani, acele contaminate au provocat neintenționat infectarea a milioane de egipteni, care au primit trei injecții cu un medicament împotriva *schistosomiozei* (denumită și bilharzia). Aceasta este o infecție parazitară răspândită prin urină prin intermediul apei contaminate, cum ar fi râul Nil în Egipt. Paraziții au fost reduși cu succes, dar în schimb au apărut infecții cu VHC prin intermediul acelor nesterile. Nimeni nu știa încă despre VHC, iar oamenii se infectau prin reutilizarea acelor contaminate. Chiar dacă acum se știe că reutilizarea acelor este periculoasă, aceasta este încă adesea o chestiune de costuri. În prezent, cancerul hepatic este în creștere, iar Egiptul are un grad ridicat de expertiză în domeniul transplantului hepatic. O astfel de contaminare a acelor s-a întâmplat și în fosta Germanie de Est, când 3000 de femei au fost injectate împotriva incompatibilității factorului Rhesus, o proteină caracteristică globulelor roșii. Această dispoziție genetică poate împiedica nașterea unui al doilea copil - așa cum a fost cazul lui Goethe și al soției sale. De asemenea, nimeni nu vrea să-și amintească de „miracolul de la Berna” din 1954: mai mulți membri ai echipei s-au îmbolnăvit de hepatită - despre care nu se știa încă că era cauzată de VHC. Abia zeci de ani mai târziu s-a înțeles acest lucru, când au apărut mai multe tumori. Acestea au fost atribuite injecțiilor cu vitamine cu un ac contaminat, care circulau printre jucători.

Doi pionieri ai cercetării VHC sunt Charles M. Rice de la Universitatea Rockefeller din New York și Ralf Bartenschlager de la Universitatea din Heidelberg, care au dezvoltat un ciclu simplificat de replicare a VHC în eprubetă prin utilizarea unui „replicon”, un virus trunchiat, care a permis depistarea medicamentelor în condiții de siguranță puțin stricte. Recent, au devenit disponibile noi medicamente care omoară VHC în trei luni, cu „eliminarea” completă a virusului din organismul unui pacient - un vis încă inaccesibil pentru HIV. Aceasta este o mare poveste de succes, chiar dacă o terapie costă 54 000 EUR. Aceasta ar trebui să fie disponibilă pentru toți cei afectați - dar există restricții din partea asigurărilor de sănătate care sprijină doar stadiile avansate. Timp de mulți ani, terapia cu interferon a fost singura opțiune - dar mult mai puțin reușită. Din fericire, pacienții egipteni primesc acest medicament la un preț de 900 de dolari americani pe ciclu. Dar de ce se răspândește încă VHC în Egipt nu este clar. 15% din populație este infectată. Se datorează obiceiului de a se bărbieri la frizerie - și de a se infecta acolo? Igiena picioarelor de către podologi nu este populară în Egipt (!), ci în țările occidentale, unde poate exista și un anumit risc. Aproximativ 170 de milioane de persoane sunt infectate cu VHC la nivel mondial. Rice și Bartenschlager au primit amândoi Premiul Robert Koch în 2015. Ei insistă asupra faptului că mai avem nevoie de un vaccin pentru eradicarea completă a virusului. Poate că acesta va trebui să fie dezvoltat de mediul academic, deoarece în prezent companiile sunt mulțumite cu medicamentele profitabile! Poate că merită menționat faptul că inflamația cronică este o cauză a cancerului chiar și în absența altor factori. Am învățat că, la animale, o bucată de metal, dacă este fixată sub piele, poate duce la cancer. În mod similar, răzuirea permanentă de către o proteză dentară poate duce la cancer. Și cunoaștem cu toții cancerul ciclistului Lance Armstrong - pe care l-ar fi dobândit de pe șa, din cauza mersului pe bicicletă prea multe ore - sau ani! Tumoarea a fost probabil cauzată de abraziunea constantă.

Papilomavirusurile aparţin unui grup denumit „Papovavirusuri”: virusurile papiloma, polioma şi SV40. Acestea arată ca nişte virusuri prototipice, constând în structuri icosaedrice cu ADN dublu-catenar. Papilomavirusul uman, HPV, a atras o mare atenţie atunci când Harald zur Hausen din Heidelberg a primit Premiul Nobel împreună cu cei doi cercetători în domeniul HIV, Frangoise Barre-Sinoussi şi Luc Montagnier, în 2008. Acum, mamele fiicelor tinere se confruntă cu întrebarea dacă fetele ar trebui vaccinate împotriva tipurilor de **es** uman specifice cancerului înainte de a deveni active din punct de vedere sexual, deoarece vaccinul împotriva virușilor funcționează doar profilactic, chiar dacă virusul poate provoca cancer de col uterin doar câteva decenii mai târziu în timpul vieții lor; acest lucru este uneori detectabil sub formă de *veruci* genitale, dar doar câteva dezvoltă cancer. Alți factori precum igiena, infecțiile genitale și chiar fumatul pot contribui la apariția acestuia. Doar două din cele 178 de tipuri de papilomavirus uman cunoscute provoacă cancer, numerotate HPV-16 și HPV-18. De asemenea, bărbații tineri ar trebui să fie vaccinați, potrivit lui zur Hausen. HPV contribuie la cancerele de penis, anus, gură și gât. Acesta este implicat în 5% din totalul tumorilor la nivel mondial. Nu știm încă cât de bine vor funcționa vaccinurile, deoarece este nevoie de zeci de ani pentru ca cancerul să se dezvolte până când observăm un efect protector. Acum bărbaţii tineri sunt sfătuiți să se vaccineze. (Variantele oncogene ale HPV, HPV-16 și 18 exprimă două oncoproteine E6 și E7, factori de transcripție timpurii, care suprimă supresorii tumorali (p53 și Rb) și acționează ca stimulatori de creștere). Papovavirusurile nu se integrează în mod normal, dar dacă o fac atunci sunt genotoxice și periculoase. Virusurile Polyoma (Py) pot deveni amenințătoare la pacienții imunodeprimați după transplanturi. (Acestea, în special așa-numitele virusuri BK sau JC, denumite după pacienți, pot duce la apariția tumorilor, în timp ce SV40 este în mod normal activ doar la animale). În mod normal, aceşti viruşi nu provoacă boli: 75% dintre oameni sunt infectați, dar numai transplanturile de rinichi și imunosupresia asociată reprezintă un risc de activare a acestora. Doar 1% din celulele infectate integrează ADN-ul viral în genomul lor, aproape ca un accident. Acest lucru contribuie apoi la dezvoltarea cancerului. Virusul simian SV40 a contaminat cândva un vaccin împotriva poliovirusului care a fost produs cu mulți ani în urmă în celule de maimuțe (simieni), celule renale de maimuţă verde africană. A fost o preocupare majoră dacă acest vaccin ar putea provoca cancer ca o consecință târzie. Acest vaccin a fost administrat la milioane de ruși din fostul bloc estic. Timp de zeci de ani, aceştia au fost monitorizați pentru a depista eventuala apariție a tumorilor. Această catastrofă nu a avut loc. Producția de poliovirus pentru vaccinare a fost, de asemenea, luată în considerare ca o posibilă sursă de SIV, o rudă maimuță a HIV, cu consecințe potențiale asupra răspândirii HIV. Un comitet a concluzionat că acest lucru este puțin probabil.

Cancerul cauzează aproximativ 10 milioane de decese pe an în întreaga lume, iar această cifră este în creştere, în special în ţările sărace. În aproximativ 15 până la 20% din cazuri, sunt implicați viruși. Pentru a identifica noi viruși ca fiind cauze ale cancerului, epidemiologia de modă veche este încă extrem de informativă. Zur Hausen găsește candidați pentru viruși noi, care provoacă cancer de colon, în fripturi, în special în Argentina, unde carnea de vită este consumată foarte frecvent. Fripturile de acolo sunt foarte groase și adesea nu sunt suficient de bine încălzite pentru a ucide virușii din interior. Un alt studiu epidemiologic a arătat că norvegienii, care beau mai puțin lapte din cauza intoleranței frecvente la lactoză, au mai puține tumori mamare. Există agenți cancerigeni în lapte? Este prea devreme să ne pronunțăm. Ambele posibilități sunt discutate de zur Hausen - care a mai avut o dată dreptate, cu **es** uman, HPV!

Cancerul cauzat de microorganisme, cum ar fi bacteriile, a atras recent atenția. Bacteria *Helicobacter pylori* poate duce la cancer în stomac sau puțin mai sus, în esofag. De asemenea, o bacterie cu transmitere sexuală, care se replică în interiorul celulelor, *Chlamydia trachomatis*, contribuie la carcinomul ovarian, după cum a descris Institutul Max Planck pentru biologia infecțiilor din Berlin. Aceasta are efectul genotoxic periculos și, de asemenea, blochează repararea genelor și previne moartea celulelor - toate caracteristici care favorizează cancerul. Antibioticele au fost discutate și ca promotori indirecți ai cancerului. Dacă pacienții au nevoie de antibiotice în timp ce sunt supuși chimioterapiei - acesta poate fi un dezavantaj serios care reduce eficiența chimioterapiei, deoarece bacteriile din intestin sunt necesare pentru o terapie eficientă împotriva

cancerului şi nu ar trebui distruse de antibiotice. „Câți pacienți este posibil să fi ucis fără să știu?” a fost întrebarea ridicată de un oncolog celebru în timpul unei reuniuni recente.

Deci un singur virus cauzează o singură boală? Nu, este greşit. Un virus şi mulţi co-factori pot provoca multe boli diferite, fapt care a cauzat adesea confuzie sau neînțelegere. Virusul herpetic, virusul Epstein-Barr (EBV), este un virus cu multe manifestări. Acesta cauzează limfomul Burkitts (BL) cu ganglioni limfatici umflați adesea la copiii din Africa şi un cancer nazofaringian în China. Manualele descriu drept cauză un singur virus plus diferiți cofactori. Într-adevăr, noile tehnici de secvențiere au făcut posibilă determinarea diferențelor genetice ale virusului în ambele cazuri, precum şi într-o a treia boală: mononucleoza (o febră glandulară) sau „boala sărutului”, frecvent întâlnită în SUA în rândul studenților, care nu este un cancer, dar implică acelaşi virus, EBV. Variantele genetice au fost acum identificate prin secvențierea celor trei genomuri virale. Virusurile diferă. Diferiți cofactori, precum şi proteina Myc, contribuie la creşterea acestor celule tumorale.

Un alt virus herpetic uman este HHV-8 sau virusul herpetic Kaposi-Sarcoma-Associated (KSHV). Acesta a fost un semn distinctiv al HIV în primele zile în San Francisco, deoarece bărbații tineri erau infectați, în timp ce boala era cunoscută anterior doar la bărbații mai în vârstă. HHV-8 duce la angiogeneză (creşterea vaselor de sânge), astfel încât au fost dezvoltate medicamente anti-angiogeneză, cum ar fi factorul de creştere endotelial anti-vascular (VEGF). Acest lucru ar putea ajuta, de asemenea, împotriva altor tumori, deoarece noile vase de sânge sunt necesare pentru furnizarea de nutrienți pentru tumorile în creştere. Medicamentul este utilizat pentru tratamentul cancerului ovarian, dar şi împotriva degenerescenței maculare, care duce la orbire. Această terapie de 100.000 de dolari este controversată şi adesea are doar efecte tranzitorii.

HIV nu provoacă cancer, dar cancerul este adesea o consecință târzie: HIV este eficient în colaborare cu alți viruşi, de exemplu HIV împreună cu EBV duce la limfoame, HIV împreună cu KSHV la sarcoame Kaposi, iar HIV împreună cu HPV la carcinoame cervicale. Mai mulți viruşi cooperează târziu în timpul infecțiilor cu HIV. Important este rolul sistemului imunitar. Chiar şi cu terapia antiretrovirală, sistemul imunitar este redus şi nu este suficient de bun pentru a preveni cancerele. Acest lucru este valabil şi pentru sistemele imunitare care îmbătrânesc? Într-adevăr, rata cancerului creşte odată cu vârsta. Ce se pierde în timpul îmbătrânirii? De ce cancerul creşte odată cu vârsta, cu sau fără infecție cu HIV? Pentru a afla mai multe despre acest lucru, a fost înființat un nou Institut de Cercetare a Cancerului sub conducerea laureatului Premiului Nobel Harold Varmus, care a fost unul dintre descoperitorii proteinei oncogene **Src**.

Fatalități ciudate

Cu mulți ani în urmă, mama mi-a trimis o notă, o tăietură de ziar, pe care o am şi astăzi, despre mortalitatea neaşteptată în rândul unor oameni de ştiință destul de tineri care lucrau cu un virus tumoral la Paris. Lucram ca om de ştiință la Institutul Max Planck de Genetică Moleculară din Berlin în domeniul oncogenezelor viruşilor (mai mult decât o mână, cum ar fi Myc, Myb, Mil/Raf Src, Ets şi Erb-B2). Într-un institut din Paris, mai mulți oameni de ştiință au decedat. „Ți se poate întâmpla şi ție?”, a întrebat o mamă îngrijorată - pe bună dreptate. O comisie din Paris a ajuns la concluzia că toate tumorile erau de tipuri diferite, astfel încât un factor comun era puțin probabil. O relație de cauzalitate cu cercetările privind virusul SV40 al tumorilor animale nu a fost dovedită, deoarece toate tumorile erau diferite. Antigenul tumoral (antigenul T al SV40) a fost exclus ca o cauză - în mod greşit? Acest lucru se întâmplă acum 40 de ani. Rolul cofactorilor este complex. O persoană poate fuma, alta lucrează cu radioactivitate sau otrăvuri precum bromura de etidiu, utilizată în mod curent în laboratoare, sau are mutații genetice în genom - în combinație cu antigenul T, toate acestea pot duce la diferite tumori. Cunosc o serie de cazuri în care suspectez că antigenul T a contribuit semnificativ la apariția tumorilor şi la moartea prematură a unor colegi. Întotdeauna mi-am avertizat studenții să fie atenți la SV40 şi la antigenul T - chiar dacă virusul rareori sau niciodată nu provoacă cancer la om. Cu toate acestea, în laborator dozele sunt extrem de mari în comparație cu cele din natură. Întotdeauna îmi fac griji şi iau în considerare substanțele chimice din laborator ca potențiale substanțe cancerigene şi cauze ale cancerului. Doar ca exemplu,

să luăm *pipetarea* pe gură (pe care astăzi nimeni nu și-o mai poate imagina). Un coleg de-al meu a dezvoltat o tumoare în gură. El lucrase ani de zile cu virusul tumoral SV40 prin pipetări pe gură. A existat o legătură? Acestea sunt rapoarte de caz și nu există dovezi solide pentru cauză. Pentru a înlocui pipetarea pe gură, au fost dezvoltate becuri de cauciuc, care, dintr-un motiv oarecare, erau întotdeauna roșii. Astăzi avem pipete automate, astfel încât pipetarea pe gură este acum interzisă.

Cercetătorul Hans Aronson a luat o înghițitură de toxine difterice printr-o pipetă bucală la un institut de cercetare din Berlin și a decedat. Soția sa a fost devastată când a murit și a fondat Premiul Aronson - plină de durere. Mi s-a spus că avea bile de diamant pe pantofi, dar nu a putut trece niciodată peste moartea soțului ei și a murit de foame. Nepoata ei a supraviețuit pogromurilor din Germania și a fost prezentă când am primit Premiul Aronson pentru Cercetarea Cancerului în 1987. Am cumpărat o mică orgă cu țevi, cu două clape și o pedalieră completă, deoarece premiul era sponsorizat în mod explicit pentru un hobby privat și nu pentru cercetare. Timp de decenii nu am avut deloc timp să exersez - exact așa cum a prezis un coleg când am început să lucrez la Universitatea din Zurich - dar acum, după pensionare, pot încerca din nou!

Antigenul T al SV40 a avut o urmare. Acesta provoacă tumori la animale și, prin urmare, a fost selectat de mulți cercetători care doreau să înțeleagă mai bine cancerul. O singură genă - care nu era de așteptat să fie prea dificil de găsit funcția sa în cancer. Președintele Nixon a declarat în 1971 „Războiul împotriva cancerului” printr-o lege națională privind cancerul, bazată pe succesul programului spațial. El a crezut pur și simplu că progresul tehnic va rezolva problema cancerului, la fel ca zborul spre Lună. Aceasta a inițiat cercetarea asupra antigenului T. Dar Nixon s-a înșelat. În cercetare încă nu este clar, chiar și astăzi, câte funcții diferite poate îndeplini o astfel de proteină - sute. Este aproape omnipotentă. Cel mai rău dintre toate, cred că este periculoasă în laborator.

Retrovirusurile ca profesori ai cercetării cancerului

Retrovirusurile au arătat cercetătorilor direcția în care să caute oncogenele. Acest lucru a inițiat, acum aproximativ 50 de ani, domeniul cercetării moleculare a cancerului. Grupul meu făcea parte din mulțime. Cu un noroc enorm, am pescuit șapte proteine oncogene dintr-o singură lovitură - în mod normal, un succes limitat la basme. Aceasta este ceea ce s-a întâmplat: Organizam la Berlin, sub auspiciile EMBO, Organizația de Biologie Moleculară, un curs de formare în laborator privind virușii și oncogenele pentru 30 de studenți din întreaga Europă și din SUA. O invitată din SUA, Mette Strand, a introdus o tehnologie complet nouă pentru studenți - și pentru noi - producția de anticorpi monoclonali. Am învățat această tehnică predând-o - de asemenea, o variație interesantă a modului de a face progrese.

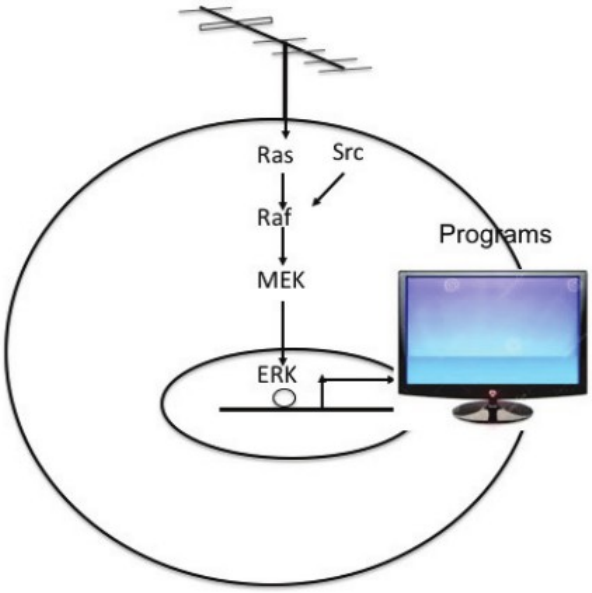
Această tehnologie este acum standard. Se pot chiar comanda gratuit anticorpi monoclonali personalizați de la centrele de servicii universitare. Principiul constă în fuziunea a două celule: una este o linie celulară tumorală nemuritoare derivată dintr-o tumoare numită mielom multiplu sau *plasmocitom*, iar cealaltă este o celulă de splină producătoare de anticorpi de la șoarecii imunizați. Celulele fuzionate, numite *hibridome*, trebuie să treacă prin selecție, alegerea celulelor individuale și propagare. În final, rezultă o singură clonă de celule identice, toate producând un anticorp foarte specific împotriva unui antigen specific (epitop). Aceasta explică cuvântul „monoclonal”. Aceștia pot fi adaptați la om departe de șoarece și constituie apoi baza pentru diverse terapii foarte specifice împotriva cancerului. Numele acestor terapii se termină cu „...**mab**” pentru anticorp monoclonal și sunt printre cele mai bune terapii împotriva cancerului disponibile în prezent.

O colegă din Berlin a fost atât de entuziasmată de noua tehnologie încât a continuat să producă anticorpi monoclonali, aproape ca o favoare pentru colegi, împotriva celor mai neobișnuite antigene, cum ar fi varianta proteinelor de suprafață ale *tripanosomilor,* cauza bolii somnului. Am încercat să concepem un „**mab**” împotriva unei oncoproteine - dar nu am reușit. „**mab**” a recunoscut partea greșită a proteinei, nu partea oncogenă (care era prea mult conservată și nu era imunogenă). Totuși, această parte era universală pentru zeci de alte oncogene, așa că am avut o undiță să le izolăm pe toate. Am petrecut o zi și o noapte fierbinte de vară caracterizând aceste

numeroase *oncoproteine* și nu am putut ține pasul cu gestionarea tuturor informațiilor. Acesta este un eveniment rar în știință și nu s-a mai întâmplat niciodată colegilor mei sau mie.

Am pescuit oncoproteine numite Myc, Myb sau Erb-B2 și o nouă kinază Mil/Raf. Pentru aceasta am organizat un anticorp de control - și am adăugat numele furnizorului drept coautor al lucrării noastre din *Nature* din 1984. Că luase acest anticorp din congelatorul altcuiva am aflat abia ani mai târziu, când colegul care îl produsese inițial m-a întrebat cum îl obținusem și de ce nu îi mulțumisem pentru el, în timp ce stăteam în Cold Spring Harbor și așteptam o limuzină de la aeroport. Lucrarea a fost publicată și nu am mai putut include numele său sau să scot celălalt nume. Noua *kinază* nu a fost acceptată imediat: era o contaminare celulară? Nu, „**mab**" pe care îl dezvoltasem a permis o purificare atât de eficientă încât am avut dreptate. (Am dovedit acest lucru în continuare prin mutarea kinazei astfel încât aceasta să-și piardă funcția. Aceasta este întotdeauna dovada finală).

Noua kinază Raf identificată funcționează în cascadă, prin care o *kinază* furnizează un fosfat următoarei *kinaze* și o activează. Aceasta este ca o cursă de ștafetă, cu patru alergători desemnați Ras, Raf, MEK și ERK. ERK este sprinterul final, traversând bariera membranei nucleare și livrând fosfatul către Myc (sau altele), care apoi activează sau dezactivează alte gene celulare și programează ca factor de transcripție. Calea este universală și, în funcție de primul stimul, poate regla fenomene precum creșterea, îmbătrânirea, producția de hormoni, răspunsul la stres, mirosul sau chiar moartea. O putem compara cu o antenă de televiziune, care poate transmite orice program către televizorul din sufragerie, unde am ales canalul pentru un anumit „program".



Transducția semnalului în celulă prin Src sau cascada de kinaze Ras, Raf, MEK și ERK pentru reglarea genelor și alegerea programelor în celulele normale, dar necontrolată în celulele tumorale.

Patru „alergători" consecutivi permit amplificarea, o mai bună reglare, întreruperea și transmiterea mai sigură decât unul singur. Ca peste tot în biologie, rezultatul depinde de intrare, context, factori suplimentari sau interferențe. Cu toate acestea, un comutator central este .
Raf este o țintă a Ras. Arată ca o cochilie închisă, dar poate fi activată într-o cochilie mai oncogenă, parțial deschisă (c-Raf se transformă în B-Raf). Versiunea oncogenă este activă în multe tipuri de cancer, în jumătate din toate melanoamele maligne, în tumorile de ovar, colon, esofag și sân. Abia recent industria a reușit să producă inhibitori împotriva Raf, aproximativ o jumătate de duzină dintre ei - la 30 de ani de la descoperirea acestei kinaze. Inhibitorii Raf pot fi aplicați. Timpul de supraviețuire al pacienților este de doar câteva luni în medie - destul de dezamăgitor. O triplă terapie ar trebui să fie mai eficientă. HIV ne-a învățat o lecție despre terapiile multiple - necesare și împotriva cancerului. Recent, m-am întâlnit cu un fost coleg de la Institutul meu, acum profesor de dermatologie, care a tratat cu succes melanoamele cu inhibitori Raf. „Nu am știut că l-ați

descoperit! Am lucrat cu el, dar nu ne-ai spus niciodată". Adevărat. 30 de ani este o perioadă lungă de timp.

O altă proteină oncogenă importantă din punct de vedere clinic este **Ras** (sarcomul șobolanului), cu o singură mutație punctuală în codonul 12. Inhibitorii împotriva **Ras** încă nu există în prezent, în ciuda eforturilor gigantice din partea industriei și a rolului său proeminent în 80% din cancerele umane. Cu toate acestea, **Ras** are atât de multe ținte care ar duce la efecte secundare - dar a fost inițiat un nou program cu mult sprijin financiar.

De asemenea, cancerul de sân are un oncogen activat ca țintă pentru terapii. HER-2/neu sau Erb- B2 este receptorul *tirozin kinază*, care este supraprodus și oncogen în 25% din tumorile mamare. Doar în aceste cazuri se aplică medicamentul scump Herceptin. Medicina personalizată este deja practicată cu acest medicament, pur și simplu pentru că medicamentul scump nu ar trebui administrat dacă nu se așteaptă să fie eficient. Această oncogenă a fost descoperită inițial în virusul eritroblastozei aviare (AEV), care astăzi a fost aproape uitat. Acest virus al găinilor nu are, într-adevăr, nicio legătură cu cancerul de sân, care este încă o enigmă pentru mine.

Oncoproteina Raf poate induce două efecte opuse: să activeze creșterea, dar și să o oprească. Am numit acest lucru „paradoxul Raf". Am atribuit acest comportament neașteptat de tip Janus unei alte kinaze (Akt) și altor factori celulari. Acest rezultat a fost acceptat în revista *Science*. Dar apoi ceva a stagnat, o a doua lucrare a unui fost coleg, care a plecat la New York, a fost aparent, de asemenea, trimisă la *Science* cauzând probleme și întârzieri pentru a noastră. Despre negocierile lor cu revista am auzit doar zvonuri, și niciun fapt real. Nu am îndrăznit niciodată să negociez cu un Jurnal. Informația despre datele noastre trebuie să fi traversat oceanul prin intermediul colegului meu elvețian. Îi plăcea să vorbească despre rezultatele sale minunate cu mult timp înainte, de asemenea prietenului său atunci când împărțeau o cameră la o întâlnire în SUA, iar apoi telefonul nu se mai oprea. A fost o poveste polițistă cu un final fericit - pentru că ambele lucrări au ajuns în cele din urmă „spate în spate" în *Science*, cea de-a doua incluzându-ne și pe noi. Am luptat pentru asta! Și care este lecția de luat acasă? *Vorbiți* despre rezultatele voastre - s-ar putea să vă treziți cu două lucrări la *Științe* - dacă sunteți norocoși!

O altă lecție se referă la pacienți: „Paradoxul Raf" are consecințe asupra terapiei, inhibarea creșterii este intenționată, dar cum rămâne cu inhibarea stopării creșterii? Tumoarea va crește - opusul efectului dorit. Recent, autorii au descris efectele secundare periculoase ale noilor medicamente la pacienți, așa cum am prezis și am demonstrat în cultura celulară. Ei nu au menționat sau nu și-au amintit nimic despre publicațiile noastre anterioare. Acesta a devenit un nou truc: ignorați literatura de specialitate și sperați că recenzorii nu vor observa. Acest lucru vă va îmbunătăți descoperirea și prioritatea. Și, într-adevăr, de foarte multe ori evaluatorii nu observă. Eu - spre surprinderea mea - m-am lăsat purtat de val în timpul unei reuniuni, plângându-mă vorbitorului în fața unei audiențe științifice despre „paradoxul Raf" al nostru, prezicându-i problemele. „Eram prieteni", mi-am început atacul asupra unui coleg pe care îl cunoșteam de 40 de ani și pe care îl informasem pentru prima dată, într-o discuție personală, că pare să fi «uitat» cele două lucrări ale noastre din *Science*. „Ce doriți mai exact?", a întrebat președintele. „Citarea corectă!" a fost răspunsul meu. Președintele și vorbitorul au fost supărați, dar alți participanți au aplaudat și ulterior mi-au adus ciocolată și felicitări - chiar și a doua zi - pentru că am fost atât de „curajoasă". Nu, am fost doar furioasă! Și un pic rușinată. În ziua următoare, mai mulți redactori au inițiat discuții cu privire la această binecunoscută „abatere științifică". Există mașini de căutare în literatură pentru citate corecte.

Industria farmaceutică pare să le folosească - cel puțin ei îmi trimit toate informațiile despre reactivii Raf în scopuri de cercetare - de care nu mai am nevoie după pensionare.

Proteina Myc și accidentele de reactor

O altă clasă de proteine oncogene cuprinde factorii de transcripție, care reglează programele celulare la nivelul transcripției ADN. Unul foarte important este proteina **Myc**, un actor universal în reglarea genelor.

Toate genele noastre sunt prezente în fiecare celulă, dar numai un subset special al acestora este activat. Acesta este modul în care celulele corpului nostru, din care avem 200 de tipuri, sunt specializate. Activarea poate merge prost: factorii de transcripţie oncogeni ai virusilor tumorali pot activa programe greşite şi provoca cancer. Un exemplu important este proteina **Myc**.

Pentru a-l studia, a trebuit să cultivăm virusul în ouă de prepeliţă (nimeni nu mi-a putut explica vreodată de ce trebuia să folosim ouă de prepeliţă şi nu de găină!). Ouăle aveau tendinţa de a dispărea în adăpostul animalelor - mi s-a spus că sunt chiar mai bune afrodisiace decât coarnele măcinate de rinocer african! Odată am clocit sute de ouă, producând mici prepelite pe care le aduceam într-o colivie uriaşă, o voliere pe Insula Păunului din Berlin, pentru a curăţa pământul. Am dus o cutie enormă, plină de păsărele mici, peste lac cu feribotul până la insulă. După acest experiment reuşit, am primit câteva ouă mari de păun de la fermierul încântat, singura persoană care avea voie să locuiască pe insulă. Am încercat să le clocim. Acest lucru a necesitat o modificare a incubatorului nostru de ouă de găină pentru a se potrivi cu dimensiunea uriaşă a ouălor de păun, pe care atelierul Institutului a făcut-o imediat posibilă - împărtăşindu-ne entuziasmul faţă de un astfel de experiment „aplicat” - dar din păcate nu am reuşit: fie ouăle nu au fost fertilizate, fie s-au uscat. Niciun păun nou - ce poveste tristă. Aşa că am continuat să învăţăm despre **Myc** din celulele de prepeliţă.

Proteina Myc normală, c-Myc celulară, reglează în mod normal aproximativ 15% din toate genele umane prin legarea la un *enhancer.* Myc însuşi este supraexprimat în multe celule tumorale. Dereglarea sau exprimarea intempestivă a proteinei Myc şi a genelor sale ţintă poate favoriza apariţia tumorilor. Myc este una dintre numeroasele ţinte finale ale căilor de semnalizare, cum ar fi calea Ras-Raf-MEK-ERK, care reglează funcţiile celulare. Există două versiuni specifice ţesuturilor: L-Myc special pentru plămâni şi N-Myc pentru neuroblastom, o tumoră cerebrală în care supraexpresia de până la 10 000 de ori se corelează cu o creştere foarte agresivă a tumorii. Ceea ce face ca proteinele tumorale să fie periculoase este o doză greşită şi un moment nepotrivit.

Acest lucru se întâmplă frecvent după accidentele reactoarelor nucleare, care duc la ruperea cromozomilor şi, adesea, la apariţia tumorilor din sânge, leucoame şi limfoame. Celulele sanguine repară cromozomii rupţi cu ajutorul *recombinazelor* lor, de asemenea, rupturile greşite conducând la apariţia tumorilor sanguine. O combinaţie nelegitimă a cromozomilor 8 şi 14 duce la supraproducţia proteinei Myc şi la leucemii, aşa cum s-a observat după catastrofa de la Cernobîl. Aceasta este abreviată prin **t** pentru translocaţie, t(8,14). O altă translocaţie cromozomială t(9,22) duce la leucemia mieloidă cronică, LMC. Astfel apare aşa-numitul cromozom „Philadelphia”, în care două proteine care inhibă creşterea devin trunchiate şi fuzionează cu o proteină oncogenă Bcr-Abl, care favorizează foarte mult creşterea, care şi-a pierdut ambele funcţii inhibitoare - de asemenea, o consecinţă a eşecurilor nucleare.

În acest caz, din fericire, a fost dezvoltat un inhibitor, Gleevec, un „medicament orfan” (cu mai puţin de 10 000 de cazuri noi pe an la nivel mondial) pe care o companie elveţiană l-a iniţiat şi abandonat. Cu toate acestea, unul dintre colegii lor, Nick Lyden, a înfiinţat o societate *spin-off* (Kinetix Pharmaceuticals) în SUA, care a avut ca rezultat un blockbuster, deoarece Gleevec s-a dovedit în mod surprinzător a fi activ nu numai împotriva leucemiei CML, ci şi împotriva cancerului de stomac şi a altor tumori. Compania mamă a intervenit apoi din nou! Acum, rezistenţele la medicamente sunt în creştere, avem nevoie de mai multe medicamente!

Myc a fost suspectat de a fi un oncogen primar într-un limfom, limfomul Burkitt (BL), dar aici este doar un cofactor motor. Rezultatele noastre privind capacitatea de legare a Myc la ADN pentru reglarea genelor m-au adus în Israel, în urmă cu aproximativ 30 de ani, la un congres privind limfomul, organizat de George Klein de la Institutul Karolinska din Stockholm. Ca german şi oaspete al unui refugiat dintr-un lagăr de concentrare, a fost un privilegiu pentru mine să fiu invitat. Am fost recunoscut pentru rezultatele noastre privind **Myc** printr-un premiu care s-a încheiat într-un mod nefericit, deoarece comitetul de premiere nu a fost de acord să îi includă pe colegii mei de muncă. Când am împărţit totuşi banii din premiu, acest lucru nu a fost bine primit de colegii mei, deoarece banii nu conferă prestigiu. În plus, directorul unui institut de cercetare din Seattle, care se întâmpla să stea lângă mine într-un taxi în drum spre un congres, a fost supărat, susţinând că

colaboratorii săi au avut primii rezultatele. Noi am publicat primii rezultatele noastre în *Nature*, fără să le cunoaştem pe ale lor. Cu toate acestea, colegul frustrat a fost influent şi m-a izolat de „scena Myc" pentru toată viaţa mea! Ce mi-a spus un director al Institutului Max Planck din Berlin? Întotdeauna vei avea probleme cu lucrările importante - dar niciodată cu cele plictisitoare. Asta a fost valabil pentru tot restul vieţii mele în cercetare. Apropo, majoritatea lucrărilor sunt plictisitoare!

Chiar şi fără gena **myc**, retrovirusul integrat poate provoca cancer prin intermediul promotorului său, prin activarea „în aval" a unor gene celulare necunoscute, astfel încât cancerul la pui pe care l-am observat este similar celui indus de **myc**, cu excepţia faptului că, în cazul **myc**, tumoarea apare foarte repede, în timp ce în lipsa acestuia durează mult mai mult. Această inserţie a promotorului s-a întâmplat o dată cu o terapie genică care a provocat apoi cancerul în loc să îl vindece. Terapia genică a avut destul succes la zece copii, dar doi dintre ei au dezvoltat leucemie, deoarece promotorul viral a „activat" o genă celulară (un factor de transcripţie LM02) şi a indus leucemia - care, cu toate acestea, a fost apoi controlată cu succes. În teorie, acest pericol a fost întotdeauna prevăzut, dar faptul că se întâmplă atât de frecvent la doi din zece pacienţi a fost şocant!

Un studiu internaţional privind limfoamele a inclus, printre multe alte substanţe, anticorpii noştri monoclonali, *„mabs"* împotriva proteinei **Myc** pentru a o testa în vederea diagnosticării în cadrul „clasificării Kiel" a limfoamelor. Acest lucru a dus la invitaţia mea de a fi numit profesor la Universitatea din Kiel. Cu toate acestea, ministrul (femeie) al cercetării, în timp ce comenta despre frumoasa mea geantă verde-albastră (culorile preferate ale oamenilor de la malul mării), nu a găsit niciodată bani pentru eliminarea deşeurilor infecţioase - care ar fi contaminat Marea Baltică. Nu mă confundaţi: Nu am ajuns la Kiel şi nu am ajuns în casa străbunicilor mei. Acesta trebuia să fie Institutul. Numele străzii „Moelling Street" nu are nimic de-a face cu mine, ci este în onoarea străbunicului meu, care a construit portul, Canalul Mării de Nord-Est - una dintre cele mai aglomerate căi navigabile de astăzi - şi căile ferate pentru legăturile feroviare. Ar fi meritat o stradă mai frumoasă, totuşi.

Myc a fost onorat indirect în 2012, când a fost acordat Premiul Nobel pentru cercetarea celulelor *stem* şi regenerarea ţesuturilor. Myc este unul dintre cei patru factori care pot transforma o celulă adultă înapoi într-o celulă *stem multipotentă*, cu diviziune activă. Cu toate acestea, se află într-o apropiere periculoasă de celulele tumorale, care se caracterizează prin creştere dereglementată, după cum se va menţiona mai târziu. Myc poate face celulele „grase" - o nouă proprietate care corelează creşterea celulară şi creşterea volumului celular. Ar putea duce aceasta la o masă corporală ridicată? Nimeni nu ştie încă.

Există medicamente împotriva Myc? În calitate de consilier, în urmă cu câteva decenii, am votat împotriva unui test antidoping: Un coleg olandez m-a invitat la Philadelphia pentru a mă întâlni cu colegii de la compania Centocor (acum Johnson & Johnson), fluturându-mi biletele de avion. Era Jo Hilgers - cunoscut sub numele de „Olandezul zburător", ceea ce într-adevăr s-a dovedit a fi. A trebuit să evaluez proteinele oncogene ca ţinte ale medicamentelor. Sfatul meu a fost „fără medicamente" - blocarea acestor proteine, care au atât de multe roluri importante în celulele normale, mi s-a părut a fi prea riscantă pentru tratament. Am avut dreptate în ceea ce priveşte Myc: este prea importantă în creştere, inclusiv în celulele *stem* (după cum ştim acum) pentru a fi vizată de inhibitori. Abia recent, au început discuţiile în care L-Myc este luată în considerare ca ţintă pe termen scurt pentru compuşii de tratare a cancerului pulmonar. O terapie scurtă, tranzitorie, o mică „fereastră" terapeutică, poate fi posibilă fără prea multe efecte secundare. Acest concept este nou şi acum frecvent întâlnit. Cu toate acestea, am greşit total cu sfatul meu privind kinaza Raf. Nu puteam să-mi imaginez că una din o mie de kinaze, care erau deja cunoscute, ar putea fi inhibată în mod specific, aşa că nu am propus-o ca ţintă farmaceutică. Nimeni nu s-a gândit să breveteze nici Myc, nici **kinaza Raf** ca ţinte ale cancerului şi nimeni nu a iniţiat un screening al inhibitorilor. Acum, după mai bine de 30 de ani, sunt disponibili inhibitori puternici ai kinazei Raf, în special împotriva formei oncogene, care este deja preactivată pentru cancer. (B-Raf oncogenic împreună cu c-Raf normal sunt importante în cancer, deoarece hetero-dimerizează şi inhibitorii reacţionează imprevizibil) Noile medicamente sunt acum vedetele pentru tratamentul cancerului şi sunt deja

utilizate în contexte clinice. Unii alți inhibitori de kinază sunt foarte suportivi în terapiile combinate. Inhibitorii de Myc nu sunt încă disponibili.

Toate brevetele ar fi expirat oricum astăzi și - ca să fie clar - nu mă îmbogățesc, așa cum bănuiesc unii oameni, și nici nu ar trebui, deoarece cercetarea mea a fost plătită din bani publici. Oricum, contribuția mea a fost complet uitată, dar mă bucur că (aproape) întreaga viață pe care am petrecut-o în cercetarea cancerului a contribuit un pic la războiul împotriva cancerului!

Supresorii tumorali și accidentele de mașină

Ce evenimente cauzează tumorile? Gândiți-vă la o tumoare ca la un accident de mașină; atunci există două posibilități: viteză prea mare sau frânare defectuoasă. În ambele cazuri, mașina merge prea repede - simbolizând creșterea prea mare a unei celule și un accident, o tumoare.

Pierderea frânelor corespunde pierderii unui „supresor tumoral”. O celulă normală are două seturi de cromozomi și, prin urmare, de două ori aceeași frână. Dacă ambele cedează, cancerul apare rapid - ce se întâmplă dacă doar una dintre cele două frâne cedează? Nu apare o tumoare lentă, ci o tumoare târzie.

La această întrebare a răspuns Alfred Knudson de la Fox Chase Cancer Center de lângă Philadelphia, analizând o tumoră oculară, *retinoblastomul*. El a detectat această tumoră fie la copiii foarte mici, fie la persoanele în vârstă.

El se întreba despre aceste extreme. Dacă gena, pe care el a numit-o gena retinoblastomului, Rb, era defectă de două ori, în ambii cromozomi, atunci tumoarea se dezvolta la copiii mici. Cei născuți cu un singur defect, nu cu două, dezvoltau tumoarea mult mai târziu în viață și dobândeau defecte suplimentare pe parcursul vieții. Astfel, dezvoltarea tumorii a fost fie dominantă, fie recesivă, rapidă sau târzie. El a primit premiul Lasker pentru această „ipoteză a două defecte”. Premiul Lasker este o copie a zeiței grecești a victoriei, Nike, cu două aripi, dar fără cap, care este expusă la Luvru în sala scărilor deoarece este prea mare pentru sălile de expoziție. O copie domină și clădirea principală a Universității din Zurich. Este această statuie menită să îi stimuleze pe studenții care aspiră la unul dintre cele mai importante premii în știință - la un pas de Premiul Nobel? Ar fi un mare stimulent - dacă studenții ar ști, ceea ce mă îndoiesc. S-ar putea să cunoască Nike-ul albastru aprins al lui Yves Klein, sau poate nici pe acela.

Astfel, doar predispoziția pentru cancer este ereditară, dar un cromozom defect poate permite totuși un fenotip sănătos și să rămână neobservat. Jumătate din doza de proteină Rb este aparent suficientă pentru a suprima o tumoare timp de decenii. Numai greșelile suplimentare vor crește progresia cancerului. Există ceva de remarcat - un factor de doi în biologie poate fi extrem de important, așa cum se arată aici, dar este adesea neglijat ca fiind prea mic și irelevant! Acest lucru este teribil de greșit - un factor de doi poate conta cu adevărat!

Există o altă proteină supresoare de tumori, p53. Aceasta are o structură care amintește de o mână cu degete, care atinge și detectează defecte în ADN, ruperi de fire sau mutații nepotrivite. Apoi, p53 activează un program de alarmă și oprește creșterea celulară pentru a câștiga timp în vederea efectuării reparațiilor.

Alternativ, p53 induce moartea celulară dacă situația este disperată. Dacă ambele măsuri de siguranță eșuează, celula va deveni o celulă tumorală.

Genele supresoare tumorale sunt favoritele terapiei genice împotriva cancerului. În ciuda dezvoltării multifactoriale a celulelor canceroase, fenotipul poate fi inversat printr-o singură terapie cu un p53 intact, furnizat de un virus artificial. Acest lucru este surprinzător și trebuie să indice că p53 este un actor-cheie în dezvoltarea cancerului. Ea trebuie să treacă peste zeci de defecte pentru a „normaliza” o celulă. Prin urmare, p53 este o genă preferată pentru înlocuirea prin terapie genică. Un medic din orașul Canton (astăzi Guangzhou) din China oferă deja această terapie, pe internet. Aș recomanda totuși să se aștepte până când abordarea este oferită de oameni de știință sau medici cu aprobarea autorităților de reglementare. Mai multe grupuri - inclusiv unul dintre principalii descoperitori ai p53, Sir David Lane din Marea Britanie - sunt ocupate să lucreze la aceasta în Singapore.

Merită menționat faptul că multe oncogene virale își datorează oncogenitatea foarte ridicată în principal capacității lor de a lega și elimina proteinele supresoare de tumori; astfel, ele au funcții duble, sunt oncogene, dar și gene supresoare antitumorale în același timp. Acest lucru poate fi interpretat ca o strategie de supraviețuire virală, deoarece un oncogen viral care elimină un inhibitor de creștere garantează o mai bună supraviețuire a celulei gazdă și o progenie virală ridicată, printr-un mecanism mutualist. Virușii pot merge chiar mai departe și pot preveni *apoptoza*, o moarte celulară programată, pentru propriul lor profit. O celulă vie este mai bună pentru virus decât o celulă moartă. Prin urmare, inhibitorii *apoptozei* pot fi găsiți în mulți viruși, adenovirusuri, poxvirusuri, virusuri herpetice și virusul pestei porcine africane, destul de rar, în care a fost descoperit efectul antiapoptotic al virușilor. Un efect anti-apoptotic al unui virus poate duce la cancer, în care celulele nu mor niciodată.

Diferitele etape de dezvoltare ale tumorilor umane au fost analizate de Bert Vogelstein din Baltimore. El a folosit cancerul de colon ca model. Aceasta a dus la cifre înspăimântătoare: dezvoltarea cancerului durează 30 de ani! Diferitele etape se caracterizează prin diverse oncogene activate și pierderea genelor supresoare de tumori, aproximativ 54 și, respectiv, 71. Până la opt gene pot funcționa ca „drivere” pentru dezvoltarea cancerului, driverele fiind celule unice cu mutații care conduc la rate de proliferare mai mari decât cele ale celulelor învecinate. Astfel, populația celulară se schimbă constant, ceea ce complică terapiile. În plus, fiecare persoană își dezvoltă propria tumoare individuală, care necesită terapii individuale este necesară medicina personalizată.

În primii șapte ani de dezvoltare a unei tumori, apare mai întâi hiperproliferarea celulelor, caracteristică unui stadiu incipient prin polipi benigni, așa-numitele *adenoame*. De asemenea, vor avea loc modificări în contactul celulă-celulă prin molecule de adeziune, cum ar fi *cateninele*. Ulterior, polipii mici cresc și devin mai mari, se activează kinaza de supraviețuire Akt, se pierd genele supresoare de tumori precum p53 sau o genă specifică celulei „*deleted in colon cancer*” (DDC) și apoi oncogenele precum kinaza Ras și Raf mutante conduc la progresia cancerului. Vogelstein estimează că acest proces durează 17 ani. În următorii doi ani, progresia tumorală include carcinoame avansate și, ca activare târzie a metastazelor, gene precum Met sau **mn23** pentru metastaze, când tumora pătrunde în fluxul sanguin și diseminează celulele tumorale individuale care și-au pierdut contactele celulă-celulă. În concluzie, acest proces durează aproximativ 30 de ani. Un defect al unei celule care conduce la un avantaj de creștere va crește șansa următoarei greșeli. Când ar trebui să începem o terapie? Când dorim un diagnostic?

Metastazele - și cum învață celulele să alerge

Cu mult înainte ca genele supresoare de tumori să trezească interesul general, un supresor de tumori a fost descoperit cu zeci de ani în urmă de Elisabeth Gateff. Pentru aceasta, ea a primit Premiul Meyenburg pentru Cercetarea Cancerului la Heidelberg în 1988, căci altfel munca ei ar fi fost uitată. Ea a numit gena „*discs-large*” (discuri mari). Dacă lipsește, aceasta duce la defecte embrionare la muște și la dezvoltarea anormală a aripilor, picioarelor și antenelor. În laboratorul meu am ajuns din întâmplare la un proiect privind acest tip de proteină supresoare de tumori, analizând o proteină „PDZ” care se leagă de oncoproteina **Src**. La început, ne-am propus să inhibăm proteina PDZ, cu scopul de a preveni creșterea tumorilor. Cu toate acestea, D din numele domeniului PDZ ar fi trebuit să ne avertizeze, deoarece reprezintă discuri mari, indicând faptul că proteina este o proteină supresoare de tumori (la fel ca P și Z). Un inhibitor împotriva unui supresor de tumori ar activa cancerul, nu l-ar inhiba. Între timp, am primit un grant semnificativ din partea unui program guvernamental pentru cercetare și tehnologie, BMBF, pentru a intensifica colaborarea dintre cercetarea academică și companii, cu Evotec din Hamburg pentru dezvoltarea de medicamente. Am dezbătut cum să evităm pierderea subvenției și am reformulat întrebarea: cum inhibă domeniile PDZ creșterea tumorală - poate ar putea fi stimulate de medicamente? Dacă această proteină lipsește la nou-născuți, aceștia pot suferi de sindromul buzei despicate sau de spina bifida, unde contactele celulare nu se închid. Un alt nume pentru proteină descrie fenomenul în mod semnificativ ca „canoe”. Există aproximativ 600 de astfel de proteine, care mențin celulele în

contact şi împiedică creşterea. Virusurile herpetice exploatează acest contact, pentru a se strecura de la o celulă la alta („herpes” înseamnă „târâtor”). Mulţi oameni s-au confruntat cu o rană labială pe buză cauzată de un virus herpetic, care se strecoară, migrând prin activarea stresului de la ganglioni îndepărtaţi la buze.

Aproape că am pierdut această subvenţie germană de 1,8 milioane de euro, deoarece la acea vreme eram profesor la un institut elveţian, nu german. „Împărtăşeşte-l”, am fost sfătuit neoficial. Am mers în ziua „uşilor deschise” la unul dintre cele mai mari spitale din Berlin, oferindu-le pe loc multor colegi şansa de a împărţi această subvenţie cu mine, pentru ca proiectul să fie măcar parţial unul german. În cele din urmă, însuşi decanul a acceptat-o şi, foarte generos, nici măcar nu a solicitat partea sa - ba chiar mi-a permis să folosesc antetul său, adică al spitalului „Charite” din Berlin pentru corespondenţa ulterioară. („Am încredere în tine”!!) El dorea cooperarea ştiinţifică, care, într-adevăr, a funcţionat foarte bine.

Am publicat rezultatele noastre privind supresorii tumorali care organizează receptorii membranari în *Nature Biotechnology* în 1999, cu nenumăraţi coautori. Unul dintre aceştia a plecat din Zurich în ţara sa natală, Australia, şi a adăugat alte câteva nume de acolo pe lista autorilor. Când m-am plâns de acest lucru, şeful institutului său şi-a exprimat interesul pentru şi mai mulţi coautori suplimentari şi a considerat că este o „onoare” pentru universitatea sa. I-am inclus pe toţi, mai mult de o jumătate de duzină. Nu-i cunosc pe niciunul dintre ei - nici măcar astăzi. Înainte ca această problemă să fie rezolvată, am primit o scrisoare de la un avocat din Hawaii. Clientul său pretindea, de asemenea, coautorat - un fost student de vară, care îşi aştepta viza pentru SUA în laboratorul meu. De ani de zile nu mai ştiam nimic de el. De unde ştia el despre pregătirea lucrării noastre? Aceasta a rămas o enigmă pentru mine şi am preferat să nu aflu răspunsul. Am inclus doar numele său.

Proteinele supresoare de tumori PDZ se leagă de proteina canceroasă **Src**. Dacă lipseşte un singur aminoacid la capătul său, efectul supresor PDZ dispare, celulele pierd contactele, formează structuri asemănătoare unor picioare, *pseudopodia*, şi le folosesc pentru mişcare, fug şi devin metastaze. Împreună cu specialişti din grupul de secvenţiere de la Institutul Max Planck de Genetică Moleculară din Berlin am încercat să aflăm care este diferenţa dintre celulele metastatice şi cele nemetastatice prin profilarea expresiei, adică analiza întregului set de *transcripte* sau „transcriptom”. Am detectat 600 de gene exprimate diferit, o cifră pe care cu greu am putut să o credem. Modul în care am realizat acest lucru va fi descris în continuare.

-Ome şi -Omics

Studentul la bioinformatică de la Institutul Max Planck stă în faţa calculatorului său, fără să observe persoanele care intră sau ies din încăpere, cutiile de prăjituri pe jumătate goale de pe masă şi grămezile de sticle de apă din plastic de sub biroul său. El analizează *transcriptomul* celulelor normale faţă de cel al celulelor metastatice. Tot ceea ce se termină în **-ome** cuprinde toate componentele unei probe date, toţi ARNm (transcriptom), toate proteinele (proteom), toţi metaboliţii (metabolom), toate kinazele (kinom) etc. Ideea este „fă-le pe toate”. Mai ales componentele care sunt complet necunoscute individual sunt analizate în bloc, nu individual, ci toate împreună. (Unui prieten, care nu este om de ştiinţă, nu i-a plăcut această secţiune şi mi-a sugerat să o şterg. Puteţi sări peste ea. Principiul este în orice caz deja clar. Dar poate că unele dintre expresiile tehnice merită reţinute dacă un şef în vârstă vrea să înţeleagă conversaţia tinerilor săi studenţi)!

Să continuăm: În primul rând, există un computer cu numele frumos Illumina, care face totul, secvenţiind tot ARN-ul după transcrierea în ADN - o maşină de mare capacitate, care generează şi stochează secvenţele. O astfel de maşină este acum disponibilă la fiecare institut dintr-o universitate. Genele cunoscute pot fi identificate cu uşurinţă, genele necunoscute trebuie secvenţiate în totalitate, ceea ce duce la miliarde de secvenţe, denumite „secvenţiere de generaţie următoare” (NGS), adică o versiune mai nouă decât cele anterioare. Secvenţierea repetată este efectuată pentru a reduce erorile statistice, numite „acoperire” - astfel încât 10 repetări corespund

unei acoperiri de zece ori mai mari. Toate genele unui eșantion sunt analizate prin „genomică”. ADN-ul este fragmentat prin metoda „*shotgun*”, iar bucățile sunt reunite în „Contigs” (secțiuni contigue). Aici trebuie învățat un vocabular nou. Apoi, secvențele sunt aliniate prin comparație cu un „genom de referință” pentru a le identifica. Acesta este un eșantion sau un model de genom asupra căruia oamenii de știință au căzut de acord. Genomul uman de referinţă oficial nu este derivat de la o singură persoană, ci de la un om virtual. Acesta a fost compus din secvențe ADN de la mai mult de 20 de „donatori” și este în continuă perfecționare.

Două genomuri „normale” diferă cu mai mult de 3 milioane de nucleotide - SNP, polimorfisme nucleotidice mici (pronunțate „*snipps*”), mutații punctuale. Acest număr este enorm - există într-adevăr atât de multe diferențe „normale”? Aproape 0,1% din fiecare genom este diferit - dar ce înseamnă asta? Probabil că nu înseamnă nimic special, cel puțin nu imediat o boală. Mai este mult de lucru pentru a descoperi care dintre diferențe indică o boală. Aceste gene vor fi determinate într-o zi de medicina personalizată - o sarcină deloc banală. Care sunt aceste gene? Am întrebat despre diferențele dintre *transcriptomi*, nivelurile de expresie ale genelor care diferă între celulele normale și cele metastatice, luând ca exemplu proteina **Src**. O diferență importantă este vizibilă la microscop. În timp ce celulele normale pot crește în culturi tridimensionale sub formă de *acini*, structuri de tip bilă, proteina metastatică le face permeabile (prin acțiunea unor proteaze digestive).

Analiza secvențelor a indicat că 600 de *transcripte* au fost exprimate diferențiat: în celulele metastatice: unele *transcripte* au fost de 10 ori, de 100 de ori, chiar de un milion de ori mai mari - dar unele, de asemenea, doar de două ori. O diferență de două ori este adesea ignorată ca fiind irelevantă, dar cred că nu este așa. Avem doi cromozomi; dacă lipsește o genă, atunci celula este deja la jumătatea drumului către o tumoare. Un program de calculator permite identificarea acestor 600 de gene, utilizând baza de date *Gene Ontology* (GO) sau altele similare. După excluderea din listă a tuturor genelor care apar și în celulele normale de control, au mai rămas 435 de gene potențial tipice metastazelor. Unele gene au o influență asupra migrației, aderenței sau *apoptozei*, iar 17 sunt factori de transcripție - care, la rândul lor, pot „activa” multe alte gene. Cât de complicat!!! Sunt unele gene mai relevante decât altele? Există gene magistrale? Mulți oameni le caută - și noi la fel.

Un alt -**om** este *metagenomul*, suma tuturor genomurilor unui organism. Un *metagenom* foarte la modă este *microbiomul*, totalitatea microorganismelor care pot fi găsite asociate cu o ființă umană: în intestin, pe piele, în canalul de naștere. La fel de interesante sunt eșantioanele din sol, canalizare, lacuri, oceane, fecalele animalelor vii sau fosile, plămânii pacienților cu fibroză chistică; chiar și smogul din Beijing este secvențiat (conține microorganisme), iar râul Gange este analizat pentru a afla de ce apa sfințită este atât de sfântă (conține anumiți fagi, care distrug unele bacterii)! Acest lucru necesită sute de specialiști în bioinformatică și calculatoare din ce în ce mai performante. Următorul subiect ar putea fi *metabolomul* - toate componentele metabolismului. Și apoi? *Kinomul* tuturor kinazelor? - Există deja 1000 cunoscute. Eu am cercetat doar una dintre ele - și, prin urmare, aceasta ridică întrebarea: de ce avem mai multă nevoie, de toate kinazele ca întreg sau de analiza unei singure kinaze, a unui caz special? Răspunsul este că este nevoie de informații de la ambele.

Freeman Dyson, unul dintre cei mai buni matematicieni și fizicieni în viață, care a ratat Premiul Nobel, dar i-a ajutat pe alții să îl obțină, pe care l-am cunoscut în timpul șederii mele la *Institute for Advanced Study* (IAS) din Princeton, a scris un articol cu titlul „*Birds and Frogs*” (Păsări și broaște), în care a discutat despre diferitele puncte de vedere asupra unui proiect, și asupra științei în general, din perspective apropiate cu salturi sau din perspective îndepărtate. Ambele sunt necesare. Dar cercetătorii preferă în mod normal una sau alta. Dyson se consideră a fi „genul broască”. (eufemism britanic?) El a devenit cunoscut mai ales pentru cartea sa intitulată *Originile vieții* - de ce la plural? De ce mai mult de una? Despre aceasta vom discuta mai târziu.

Și cum rămâne cu *viromele*, lumea tuturor virușilor? Acestea sunt deosebit de greu de găsit și de caracterizat. În genomurile noastre, care sunt pline de viruși, aceștia sunt integrați în diferite locuri și, până în prezent, doar cei din regiunile conservate ale genomului sunt considerați a fi „de interes”. Numai ceea ce este conservat în genomurile noastre este considerat important. În mod

normal, locurile de integrare a virușilor nu sunt conservate. Prin urmare, majoritatea virușilor sunt rataţi. Cu toate acestea, unii viruși au fost detectaţi în genomurile noastre și a fost o mare surpriză să aflăm cât de mulţi sunt - există milioane de retroviruși „fosili” (a se vedea mai jos). În total, sunt cunoscute în prezent 3 000 de tipuri de virusuri, dintre care aproximativ 150 provoacă uneori boli. În apele reziduale au fost catalogate 50 000 de tipuri de fagi. Reţineţi: pe planeta noastră există în total 10^{33} de viruși și fagi! Cum este posibil să le analizăm pe toate? Sunt pur și simplu prea mulţi. Așadar, va trebui să ne concentrăm din nou asupra virușilor care provoacă boli și să revenim la „perspectiva broaștei” - în contradicţie directă cu intenţia acestei cărţi, în care am dorit să îndrept atenţia cititorilor către toţi virușii care nu ne îmbolnăvesc. Cu toate acestea, s-ar putea să fie prea multe.

O discuţie despre cum să faci faţă tuturor secvenţelor - chiar și atunci când folosești Cloud-ul - s-a încheiat cu o surpriză pentru mine: nu salvaţi datele de secvenţiere, aruncaţi-le! Dacă aveţi nevoie de ele mai târziu, doar secvenţiaţi din nou. Secvenţierea repetată este mai rapidă decât stocarea și găsirea lor în baza de date – wow!

Cancerul - complet diferit?

Genomul nostru este format în proporţie de 98% din „spaţiu gol” și doar 1,5-2% din acesta codifică proteine: „gol” înseamnă secvenţe care nu codifică proteine provenite din *introni* sau alte informaţii sau pur și simplu „*junk*”. O parte din „spaţiul gol” cuprinde *retroviruși endogeni* defectuoși. Intronii sunt regiunile care ne sporesc complexitatea genetică umană prin mecanismul de *splicing*, care permite o combinaţie de exoni diferiţi, excluzând intronii. (Secvenţele intronice sunt eliminate prin *splicing* la nivelul ARN prin bucle sau excluderi de tip *lariat*). Acest lucru permite o creștere fantastică a numărului de noi combinaţii pentru noi proteine. Apoi, există mai multe secvenţe de ADN care exprimă microARN-uri reglatoare scurte, „miRs”, lungi de 20-30 de nucleotide, și opusul, ARN-uri necodificatoare lungi, „IncRNA” (pronunţat ARN „link”), lungi de sute de nucleotide. Acestea se leagă de RNAs înrudite și le reglează. Acest lucru are un rol în leucemii și constituie în prezent domenii de cercetare activă. Carlo Croce, un oncolog din Ohio, SUA, a căutat anomalii cromozomiale și proteine canceroase în leucemii și a descoperit în schimb miR-15 și miR-16. Carlo Croce a fost un vizitator și vorbitor frecvent la reuniunile privind cancerul ale Fundaţiei Mildred Scheel. M. Scheel, soţia unui fost preşedinte german, a fost medic și foarte implicată în finanţarea cercetării în domeniul cancerului în Germania - și a murit ea însăși de cancer de colon, dar fundaţia ei a supravieţuit de zeci de ani până acum. Am avut privilegiul de a primi un grant special de la ea personal, cel mai mare acordat vreodată de fondul ei (1,3 milioane de euro). Dar nimeni nu a putut să o ajute (și nu mi-am putut ajuta partenerii împotriva cancerelor lor mortale).

Carlo Croce a iniţiat o reţea cu cercetători în domeniul cancerului și a fost puţin secretos cu privire la modul în care a detectat micro ARN-urile specifice cancerului, miR-urile - dar acum, după doar câţiva ani, acestea se află în mâinile tuturor în întreaga lume. Căutarea tuturor tipurilor de ARN necodificatoare, adică „care nu codifică proteine”, ncRNA, a explodat. Mii dintre acestea au fost detectate în cancer. Companiile oferă cipuri pentru detectarea lor în probele de cancer. Diverse combinaţii ale acestora caracterizează tumorile. În legătură cu cancerul: miR-urile înlocuiesc oncogenele? Este atunci totul greșit ceea ce a fost menţionat mai sus? Într-un fel da, în diagnosticare, deoarece miR-urile sunt mai ușor de detectat: au devenit disponibile cipuri pentru găsirea miR-urilor specifice cancerului. miR-urile pot fi acum determinate în sânge, salivă și fecale și, prin urmare, din eșantionarea neinvazivă pentru diagnosticare. Cu toate acestea, unele dintre ele alimentează căile oncogene specifice descrise mai sus. Două exemple frapante sunt proteina **Myc** și supresorul tumoral **p53**. Proteina Myc acţionează prin intermediul miR-17-92 și activează multe alte gene - inclusiv oncogene precum Raf - și nu apare nicio tumoare dacă miR-ul este eliminat - ceea ce sugerează o funcţie-cheie și o posibilitate pentru viitoarele terapii care vizează miR-urile. Supresorul de tumori p53 acţionează prin miR-34 și așa mai departe!!!

MiR-urile sunt detectate în aproape orice sistem biologic la care ne putem gândi: tripanosomi, bacterii, plante, mamifere - peste tot. Teste rapide pe bază de kituri sunt disponibile pentru bolile umane până la „găini fericite”, unde miR este un biomarker pentru bunăstare și stres în timpul depunerii ouălor în sisteme de producție precum bateriile de găini și este util pentru inspectorii de sănătate animală. Aceasta este ceea ce furnizorii recomandă fermierilor aparent bine educați! De asemenea, în virusuri sunt prezente ARN mici de reglementare. Acestea au fost descoperite în HBV și, de asemenea, în HIV, unde au fost dezbătute aprins. MiR-urile mici pot regla trecerea de la genele timpurii la cele târzii în virusuri. (ARN antisens pot face, totuși, și acest lucru). În plus, ARN-urile mici provoacă efecte epigenetice și în legătură cu cancerul. Modificările epigenetice nu sunt codificate în ADN și nu apar prin mutații, ci prin intermediul ARN-urilor mici. Acestea conduc la modificări chimice ale ADN-ului ca răspuns la factorii de mediu (prin atașarea de grupări metil la nucleotide sau prin modificarea cromatinei prin acetilarea și împachetarea ADN-ului).

În mod normal, efectele epigenetice sunt doar tranzitorii și nu se transmit generației următoare. Factorii de mediu se datorează stilului de viață, alimentației, obiceiurilor precum fumatul sau consumul de alcool, stresului sau bolilor. Aceștia pot duce la modificări epigenetice, la modele speciale de metilare. Astfel de modificări pot fi uneori detectate cu ochiul liber și după culoarea șoarecilor: la un șoarece indicator special al cancerului, șoarecele Agouti, culoarea blănii este un indicator al efectelor mediului prin agenți cancerigeni (a se vedea mai jos). Blana neagră este sănătoasă, în timp ce blana galbenă indică alimente cancerigene!

Diagnosticul cancerului nu se mai poate baza pe căutarea mutațiilor sau pe supraexprimarea oncogenelor, ci modificările epigenetice, care necesită un nou diagnostic al modelelor de metilare (prin conversia bisulfitului), constituie un domeniu de cercetare în plină evoluție.

Apoi, există IncRNA-urile necodificatoare lungi, care pot fi foarte lungi și care reglează expresia genelor în celulele normale sau canceroase.

Ultimul, dar nu cel din urmă, Otto Warburg trebuie menționat. A vrut să rezolve problema cancerului - și i-a fost teribil de frică să nu moară din cauza lui. A fost atacat grav la Berlin cu puțin timp înainte de a muri, în 1970, din cauza teoriei sale neortodoxe de atunci privind cancerul. El a emis ipoteza că celulele tumorale, în loc să respire, fermentează. Chiar și ziarul german *Bild-Zeitung* nu a ezitat să publice batjocuri la adresa sa, după cum îmi amintesc destul de bine - destul de jenant, deoarece a fost cu siguranță unul dintre cei mai mari biochimiști care au existat vreodată în Germania. Potrivit lui Warburg, celulele tumorale produc energie prin căi chimice anaerobe, descompunerea zaharurilor fără oxigen. Cunoaștem cu toții un astfel de metabolism din cauza durerilor musculare cauzate de aportul insuficient de oxigen în timpul sportului sau al exercițiilor fizice. Astfel, celulele canceroase au un fel de „durere musculară”. Ele au nevoie de inhibitori ai glicolizei, care sunt în curs de dezvoltare. Warburg a primit Premiul Nobel în 1931 pentru rezolvarea problemei fermentării. Am asistat la un fel de înviere a sa în 2011, la Princeton, la Institute for Advanced Study (IAS), în timpul unui simpozion privind ipoteza cancerului lui Warburg - inclusiv fotografii ale lui Warburg - în cadrul a trei discursuri succesive de recunoaștere a conceptului său de cancer. Condițiile hipoxice din celulele tumorale sunt generate de mutațiile și modificările metabolice care cauzează cancer. Warburg însuși era atât de îngrozit de posibilitatea de a muri de cancer încât își producea propriul lapte și propriul grâu direct lângă institutul său din Berlin-Dahlem. Astăzi, Institutul Max Planck pentru Genetică Moleculară se află pe fostele câmpuri. Doar tehnicianul său avea voie să proceseze alimentele. Îi era teamă de otrăvuri? La urma urmei, există anecdote despre certuri cu familia sa, care au dus la publicarea unui anunț de deces într-un mare ziar britanic - în timp ce Warburg era sănătos și bine. Acesta a dat în judecată ziarul cu succes pentru despăgubiri: dat fiind că era o figură publică, ziarul ar fi trebuit să confirme moartea sa înainte de a o anunța. În onoarea lui Warburg, grupurile de cercetare independente din Berlin sunt denumite laboratoarele Otto-Warburg. În calitate de șef al unui astfel de grup de cercetare, beneficiind de un sprijin superb, am publicat cele mai bune lucrări ale mele privind oncogenele - cu toate acestea, nu am urmărit ideea că celulele tumorale nu au nevoie de oxigen și ar fi trebuit într-adevăr să o investighez ca obligație pentru instituție. Pur și simplu am ratat-o, destul de jenant.

23andMe - voi face cancer de sân?

Voi face cancer? Această întrebare a obsedat nu numai mintea lui Otto Warburg, ci este relevantă pentru aproape toată lumea. Există un răspuns la ea? Să încercăm:

Un coleg de la IAS din Princeton mi-a vorbit despre compania „**23andMe**” şi m-a încurajat să îmi fac analiza genetică. 23 se referă la numărul de perechi de cromozomi la oameni. Cu toate acestea, el a început apoi să se îngrijoreze şi a indicat că, în cazul unor veşti proaste, aş putea contacta o altă companie şi să sper că ar putea produce un rezultat mai bun! Într-adevăr, mai recent, companiile trebuie să îndeplinească standarde de control al calităţii (QC), pentru a se asigura că rezultatele lor sunt comparabile. FDA a interzis **23andMe** pentru o perioadă scurtă de timp din cauza QC, dar nu mai este cazul. Două laboratoare de diagnosticare trebuie să ajungă la aceleaşi concluzii, independent unul de celălalt. A trebuit să stabilesc o astfel de procedură QC, pe viruşi, în departamentul meu de diagnosticare - cu cantităţi nesfârşite de documente, protocoale, instrucţiuni, formare a personalului şi semnături. Documentele erau stivuite la metri înălţime - o adevărată provocare.

Ce pot învăţa de la un astfel de medicament personalizat şi cum aş putea face faţă eventualelor rezultate negative? Aceasta este ceea ce am vrut să aflu. Analiza mea genetică a costat 200 de dolari în 2011. De departe, nu a fost analizat întregul genom, ci doar anumite regiuni relevante, care pot fi analizate cu ajutorul cipurilor gata făcute. Un milion de perechi de baze selectate sunt testate pentru 200 de boli determinate genetic şi 100 de predispoziţii pentru anumite boli. Trebuie să se furnizeze cinci mililitri de salivă într-un anumit tub; colectarea acesteia a presupus un mic efort, deoarece nu erau permise dulciuri şi nici pastă de dinţi. Un capac gros secreta nişte conservanţi după închidere. Chiar şi poşta era deja inclusă. Totuşi, trebuie să fii de acord cu utilizarea anonimă a rezultatelor genetice în scopuri de cercetare şi analiză statistică. Acesta este motivul pentru care analiza este atât de ieftină. Nu este nevoie de anamneză - totul este dedus din gene. Directorul **23andMe** este o rudă a inventatorului Google. Un prieten din New York nu a putut participa la o astfel de analiză, care este interzisă în anumite state din SUA, inclusiv în New York. De ce? Analiza nu este aprobată de FDA, există prea multe incertitudini, există riscul de sinucideri după veşti proaste? Am folosit adresa mea din Princeton. Patru săptămâni mai târziu, am primit rezultatele prin e-mail. A început un interogatoriu etapizat, pentru a afla dacă eram într-adevăr pregătită să citesc despre şansele mele de a suferi de boala Alzheimer şi de cancer la sân şi am fost sfătuită să nu intru în panică dacă voi continua să citesc. Am fost informată câte gene ale cancerului de sân sunt cunoscute şi care dintre ele au fost testate, inclusiv referinţele la literatura ştiinţifică. În ceea ce priveşte şansele mele de a face cancer la sân, nu am primit un răspuns clar, ci doar statistici. Cu toate acestea, am aflat că gena mea Erb-B2 nu este mutantă - o caracteristică a 25% din cancerele mamare. Aceasta a fost o veste bună.

De asemenea, am fost informat care parametri nu au fost luaţi în considerare, cum ar fi „stilul de viaţă”. Dacă în viitor vor fi disponibile mai multe informaţii prin analize mai bune, voi fi informată. În ultimii cinci ani am fost înscrisă pe lista lor de corespondenţă, cu întrebări şi informaţii continue. Am aflat că sunt un descendent al Mariei Antoaneta şi al vikingilor îndrăzneţi şi înfricoşători din Scandinavia. Sunt într-adevăr de origine hughenoţilor francezi şi m-am născut în nordul Germaniei. Gene evreieşti nu au găsit: „rău pentru tine” a fost comentariul lui Eric Kandel, când am vorbit despre asta, urmat de râsul său puternic de neuitat, care mi-a amintit de ultima scenă din filmul despre viaţa sa, *În căutarea memoriei*, referindu-se atât la viaţa sa, cât şi la tema cercetării sale. El este unul dintre cei mai străluciţi cercetători ai memoriei, folosind un model animal cu numele frumos *aplysia*, cu fire nervoase deosebit de groase (un melc, un fel de meduză).

Am tensiunea oculară prea mare, colesterolul prea mare şi nu pot tolera anumite medicamente. Nu voi face emfizem, aşa cum a făcut tatăl meu (a murit din această cauză), riscul meu de a face diabet este scăzut. În realitate, totul era destul de vag, iar rezultatele erau exprimate ca probabilităţi ale diferitelor riscuri. Aşadar, nu ştiu nimic sigur. Dar o consecinţă bună ar putea fi să merg mai des la unele analize preventive. Freeman Dyson şi-a testat întreaga familie,

aproximativ 60 de persoane. Poate se va descoperi gena geniului său şi se va afla cine a moştenit-o? Până în prezent, 750 000 de clienţi din 50 de ţări au fost testaţi, cu cât mai mulţi, cu atât mai bine.

„Cine vrea să ştie asta?" a fost o întrebare frecventă a prietenilor şi rudelor, chiar şi a medicilor, când le-am spus despre analiza genomului meu. S-ar fi speriat cineva, iar asigurările de sănătate ar putea abuza de informaţii - aşa era bănuiala. Este adevărat? Unul ar putea fi fericit să afle ce fel de terapii pot fi bune sau rele pentru el şi dacă este eligibil pentru ele - pe baza datelor genetice! Acest lucru este deja practicat de asigurările de sănătate: O pacientă cu cancer mamar va primi ca terapie medicamentul foarte scump Herceptin doar dacă este identificată o mutaţie a receptorului Erb-B2, ceea ce se întâmplă doar la 25% dintre paciente. (Erb-B2 este acelaşi cu HER-2.) Medicina individualizată va veni oricum. Aparatul de secvenţiere necesar pentru aceste diagnostice va fi o versiune de birou, iar un prototip, numit MinION şi de dimensiunea a două degete, realizat de Oxford Nanopore Technologies, se afla deja pe biroul unui coleg de la ETH din Zurich. (Principiul de secvenţiere este complet nou şi se bazează pe trecerea acidului nucleic printr-o celulă de flux, un nanopor, care influenţează conducerea unui curent electric de către fiecare nucleotidă care trece, suficient de sensibil pentru specificarea şi secvenţierea acesteia, un miracol tehnic!) La un preţ de numai câteva sute de dolari, acesta va fi în curând pe biroul fiecărui medic.

Craig Venter a stabilit secvenţierea genomurilor întregi printr-o abordare foarte eficientă şi rapidă şi a fost unul dintre primii care şi-a analizat propriul genom întreg. În lumina rezultatelor sale, el a încercat să îşi reducă nivelul de colesterol prin schimbarea alimentaţiei. Ar fi existat modalităţi mai ieftine de a afla! J.D. Watson, de asemenea unul dintre primii care şi-au secvenţiat genomul, a menţionat riscul său de cancer - care, totuşi, nu l-a îngrijorat la vârsta de peste 80 de ani. Alte gene care ar putea afecta familia sa nu au fost discutate. Oftalmologul meu a râs de mine când i-am dat fişa mea de date de la *23andMe* cu unele dintre genele indicatoare mutante care sugerează un glaucom. Le-a ignorat pe toate şi m-a întrebat pur şi simplu: Bunica dvs. sau cineva din familia dvs. a avut glaucom? Asta a fost tot ce i-a păsat.

Virușii și cancer de prostată?

Virușii cauzează cancerul de prostată? Dacă ar fi adevărat, ar fi o senzație. Într-adevăr, a provocat una - dar opusul a ceea ce era de așteptat: a declanșat o alarmă falsă, deoarece, de fapt, niciun virus nu este implicat în cancerul de prostată. Presupușii viruși au fost o contaminare de laborator. Căutarea virușilor drept cauză a unei boli este o luptă permanentă împotriva contaminărilor. Laboratoarele care pot identifica virușii și care fac cercetări asupra acestora au, de asemenea, adesea spațiul lor de laborator - frigiderele, congelatoarele și uneori chiar aerul din laborator - plin de viruși, care circulă în aerosolii care apar în timpul pipetării sau atunci când sunt folosite centrifuge. Recent, a fost nevoie de șase ani pentru a afla dacă retrovirusurile cauzează sau nu cancerul de prostată. De ce a durat atât de mult, cu atât de multe metode noi disponibile? Acest lucru ne poate da o lecție.

Virusul suspectat era un retrovirus xenotropic al șoarecilor, XMRV. Acesta poate infecta nu numai șoarecii, ci și alte specii, după cum indică cuvântul *xenotropic*. Acest virus a fost detectat în probe prelevate de la unii pacienți cu cancer de prostată. Cu ajutorul reacției în lanț a polimerazei, PCR, extrem de sensibilă (descrisă anterior), secvențele virale au fost găsite uneori chiar și la oameni normali și au fost absente din eșantioanele din Europa - dar în loc să devină suspicioși, cercetătorii au postulat pur și simplu că a existat o epidemie - numai în SUA. Acolo, donațiile de sânge au fost restricționate, deoarece retrovirusurile precum HIV pot fi transmise prin sânge. Unii oameni au început chiar să ia medicamente anti-HIV, crezând că XMRV, presupusul vinovat, ar putea fi inhibat de pastilele antiretrovirale îndreptate împotriva HIV. Ar fi fost o dovadă bună, dacă ar fi fost așa! Adesea, celulele tumorale de la pacienți nu pot fi cultivate în laborator. Prin urmare, acestea sunt adesea transplantate și cultivate la șoareci. Într-adevăr, celulele au crescut apoi și au fost distribuite laboratoarelor din întreaga lume pentru studii suplimentare. Cu toate acestea, au fost contaminate cu viruși luați de la șoareci - și, în curând, la fel a fost și întreaga lume. Timp de 10 ani, din 1996 până în 2006, nimeni nu a știut despre contaminarea cu virusuri provenite de la șoareci. A

fost format un comitet care să cerceteze protocoalele de laborator şi să afle ce se întâmplă. Ce coşmar - mă cutremur numai când mă gândesc la sarcina de a căuta prin protocoalele tuturor colegilor mei din urmă cu zece ani! John Coffin, unul dintre cei mai experimentaţi specialişti în retrovirale, a fost Sherlock Holmes care a rezolvat în cele din urmă problema: virusul „nou” era un virus animal vechi, răspândit în întreaga lume împreună cu celulele „de control”, şi nu un virus al cancerului de prostată - fără Premiul Nobel. Două probleme, celule de şoarece contaminate şi teste de diagnostic contaminate prin reacţia în lanţ a polimerazei, PCR, au provocat confuzia. O poveste jenantă - dar o reluare a acesteia este uşor posibilă! Viruşii se pot răspândi şi sunt, într-adevăr, greu de eliminat. Odată, la Institutul Robert Koch din Berlin, aerul condiţionat a răspândit viruşii în întreaga clădire - deşi trebuie să recunosc că asta s-a întâmplat acum 30 de ani. De asemenea, Institutul Max Planck de Virusologie din Tubingen a fost odată închis complet, iar noi toţi am fost obligaţi să ne luăm „concediu”, deoarece întreaga clădire trebuia dezinfectată. Spitalele suferă în prezent de contaminări periculoase, iar recent şi navele de croazieră. Echipajul trebuie să înveţe cum să facă faţă norovirusurilor extrem de infecţioase, pentru care câteva particule dintr-un aerosol dintr-o toaletă sunt suficiente pentru a transmite o infecţie.

În special şoarecii au foarte mulţi viruşi. Chiar şi şoarecii de laborator „sănătoşi” înmulţiţi pot găzdui 60 de tipuri diferite de virusuri, iar şoarecii sălbatici de până la zece ori mai multe. În plus faţă de contaminarea cu viruşi, reacţiile PCR au condus, de asemenea, la semnale fals-pozitive. Contaminările pot fi cauzate în moduri surprinzătoare, care nu pot fi prevăzute de reglementări: Şoarecii pot scăpa şi se pot ascunde şi pot lua viruşi noi. Un paznic de noapte de la Institutul Max Planck din Berlin a îmblânzit un şoarece de laborator cu bucăţi de brânză în timpul turelor sale de noapte plictisitoare. Acest lucru a fost observat doar atunci când şoarecii negri nu au mai avut progenituri negre, ci pui de şoarece gri. Spre deliciul tuturor, actul fertilizării fusese efectuat prin sârma cuştii. Pentru a afla ce s-a întâmplat în acest caz a fost uşor, doar după culoare - multe alte contaminări sunt mult mai greu de identificat.

Iată un astfel de caz „greu”: Întreaga Germanie a participat la povestea poliţistă a „criminalului din Heilbronn”. Trebuia să fie rezolvată o crimă. Poliţiştii au prelevat probe de pe mânerele uşilor maşinii suspectului, de pe mânerele sertarelor din dormitor şi aşa mai departe. Tot ceea ce au testat pentru ADN prin sistemul de testare PCR extrem de sensibil - a fost pozitiv. Acest lucru a mers atât de departe încât a fost suspectat un criminal în serie. În cele din urmă, vinovatul s-a dovedit a fi o contaminare a beţişoarelor Q-tips - beţişoare cu vârf de bumbac - care erau folosite pentru prelevarea tampoanelor în vederea diagnosticării ulterioare prin analiza PCR. Acestea au fost contaminate cu ADN-ul unui angajat al companiei care le-a fabricat. Ar fi trebuit să fie inclusă o reacţie de control, pe care orice om de ştiinţă ar fi efectuat-o în mod automat - cum de s-a putut uita de acest lucru?

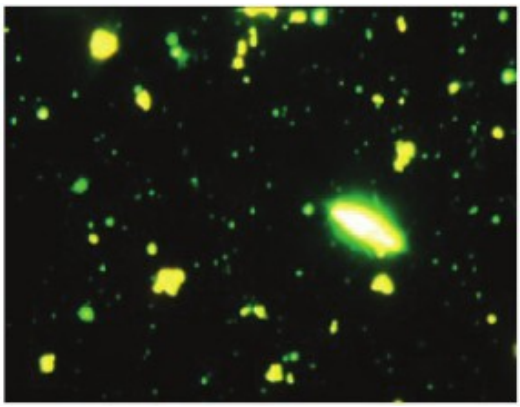
O altă contaminare s-a dovedit a nu fi contaminare - a fost descoperirea virusului HIV. În timpul unei reuniuni la Cold Spring Harbor în 1983, în SUA, Luc Montagnier şi-a prezentat datele privind un nou virus din Paris. Retrovirologii din rândul din spate al audienţei nu au crezut niciun cuvânt şi au reacţionat ca şi cum ar fi fost foarte amuzaţi, glumind pe această temă şi luând în derâdere vorbitorul. La urma urmei, alarmele false cu privire la descoperirea de noi virusuri umane au fost prea frecvente - un caz pe care mi-l amintesc a fost un virus al leucemiei maimuţelor gibon (GaLV), care s-a dovedit a fi o contaminare de laborator şi nu un virus uman deloc. De data aceasta însă, Luc Montagnier a avut dreptate!

5. Viruși care nu ne îmbolnăvesc

Un ocean plin de viruși

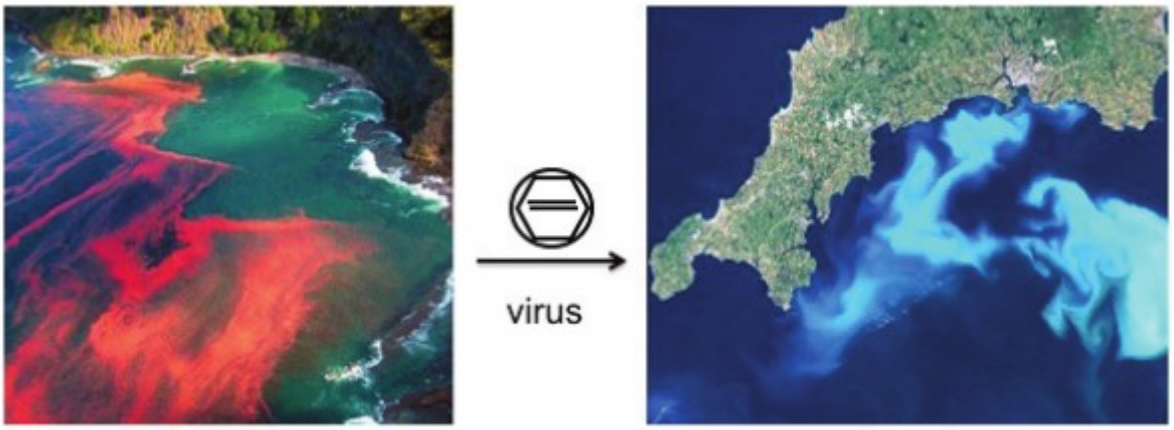
Prelegerile recente pe care le-am ținut au avut valuri de genul „Virusurile, mai mult prieteni decât dușmani”, „Nu am exista fără virusuri”, „Virusurile - mai bune decât reputația lor” „Virusurile ca inventatori”, „Virusurile ca motoare ale evoluției” și așa mai departe. Virușii nu ne îmbolnăvesc (doar) - dimpotrivă, unii dintre ei ne fac sănătoși! Aș merge până acolo încât să spun: ne-am îmbolnăvi fără viruși. Nu sunt cinic - desigur, știu despre HIV, gripă și Ebola. Cu toate acestea, perspectiva opusă este importantă și vreau ca cititorul să o cunoască pentru că este nouă, pentru că este încă aproape complet necunoscută și pentru că ar putea într-o zi să ne influențeze viața de zi cu zi. Noile tehnologii sunt baza pentru această nouă perspectivă.

În 2013 am fost să vizitez „Geomar” din Kiel, fostul Institut de Biologie Marină al Universității. În foaier poate fi văzută o machetă a navei de cercetare „MS Meteor”, care oferea excursii studenților în anii 1960 - la una dintre acestea am participat și eu, dar cum aveam mereu rău de mare, am decis să studiez fizica în schimb. Chiar și așa, sunt încă un oceanograf pasionat, așa că am venit să îl ascult pe Curtis Suttle, care este profesor de microbiologie și virusologie marină în Vancouver. Analiza microbiomului - secvențierea globală a tuturor microorganismelor - a devenit între timp bine cunoscută. În mod normal, aceasta ar trebui să cuprindă nu numai toate bacteriile, ci și toți virușii (viroza), dar aceștia sunt dificil de caracterizat și sunt încă puțin cunoscuți. Curtis Suttle, expert în virusuri, este unul dintre liderii în domeniu. Sala de curs era supraaglomerată de studenți. Îl știam deja pe Curtis Sutlle ca fiind un vorbitor inspirat, iar în acea seară, spre deliciul studenților, el a îndeplinit toate așteptările. Virușii conduc lumea? - a întrebat el. Nu se referea la bolile virale, despre care se scrie în manuale; nu, el a vrut să spună contrariul. „Cum ar fi lumea fără viruși?” Răspunsul său a fost (și este): „Noi nu am exista”. Nu am avea suficient oxigen pentru a respira, deoarece acesta este produs de viruși atunci când curăță floarea de alge din oceane în toamnă. Primul diapozitiv al prelegerii sale semăna cu o imagine a stelelor de pe cerul nopții, dar avea o cu totul altă semnificație: Cele mai mici puncte erau virușii, următoarele în mărime erau bacteriile, apoi veneau cele mai mari puncte de la protiste (mici eucariote unicelulare și pluricelulare precum algele și unele ciuperci). Până de curând, virușii din oceane au fost nedetectabili. Astfel, Curtis Sutlle a luat 200 de litri de apă oceanică, a concentrat-o și a trecut-o printr-un filtru care a reținut bacteriile mai mari (și virușii uriași). Virușii din flux au putut fi observați prin „microscopie de epifluorescență”, prin colorare cu colorantul fluorescent SYBR-Gold (un colorant cianurat extrem de sensibil).



Virusuri *Stele*

Nu stele pe cer, ci fagi (viruşi) în ocean cu colorant auriu: fagi (mici), bacterii (mai mari) şi un protist celular (mare).



Mareea roşie *Lizată*

Înflorirea algelor („mareea roşie”) este terminată de viruşi gigantici care conduc la un lichid lăptos şi la reciclarea nutrienţilor în oceane.

Imaginile revelate de această procedură au fost la fel de frumoase ca stelele pe timp de noapte. Există 10^{30} de viruşi în oceane - mai mulţi decât stelele de pe cer, al căror număr este estimat la 10^{25}. În total, ar putea exista până la 10^{33} de viruşi pe planeta noastră. Este aproape imposibil de estimat câte tipuri diferite de virusuri există cu adevărat, deoarece acestea nu pot fi deosebite cu uşurinţă. Acestea au fost analizate pentru prima dată de proiectul Global Ocean Sampling (GOS) în 2007, în cadrul căruia Craig Venter şi echipa sa au navigat cu velierul *Venters Sorcerer II* din Adanticul de Nord prin Canalul Panama până în Pacificul de Sud pentru a colecta probe de apă, deschizând astfel o nouă zonă de cercetare. O expediţie oceanică similară, *Tara Oceans*, a fost întreprinsă ulterior de membrii EMBL cu goeleta Tara, care a navigat timp de trei ani (2009-2012) prelevând probe de apă de mare din oceanele din întreaga lume - o colecţie care va produce o mină de informaţii despre microorganisme şi animale mici. Evaluarea datelor obţinute este încă în curs de desfăşurare.

Curtis Suttle se pricepe la vânzări. Vorbeşte despre viruşi când ar trebui să folosească termenul „fagi”. El ascunde acest lucru. „Nimeni nu ar veni la discuţiile mele dacă aş anunţa că este vorba despre fagi, deoarece majoritatea oamenilor nu au auzit niciodată de ei!” Aşadar, vă rog să reţineţi: fagii sunt viruşi care infectează bacteriile. Sunt viruşi adevăraţi, dar sunt limitaţi la gazdele bacteriene. Iar majoritatea viruşilor din oceane sunt fagi. Recent, însă, în oceane au fost descoperiţi viruşi gigantici. Nimeni nu are nici cea mai mică idee despre numărul acestora, deoarece sunt mari şi se comportă ca bacteriile (nu ca viruşii) sub filtrare. Termenii „fag” şi „bacteriofag” înseamnă acelaşi lucru: devoratori de bacterii. De fapt, acestea nu mănâncă bacterii, dar se pare că o fac - de

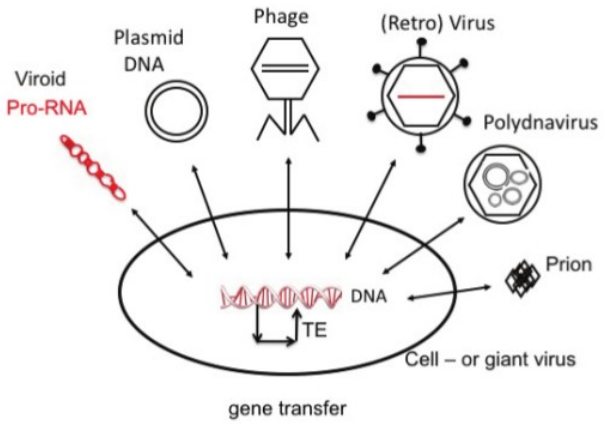
fapt, le lizează. O înghițitură de apă din Marea Baltică conține între 108 și 109 fagi și, în mod normal, aceștia nu ne îmbolnăvesc. Sunt mici și fac parte din grupul nanoparticulelor. Cât de departe ar ajunge dacă le-am alinia? Curtis Suttle adoră astfel de calcule: 10^{30} x 100 nm fac 10^{23} metri sau 10^{20} km sau 10^{7} ani-lumină. Pentru comparație: nebuloasa Crab este la 4000 de ani-lumină de noi. (Teza mea de masterat a fost despre razele cosmice din nebuloasa Crab. Am măsurat doza acestor raze la Institutul Marin într-un buncăr rămas din al Doilea Război Mondial; tavanul său avea șapte metri grosime și era folosit pentru a imita o a doua atmosferă). Virușii fac schimb de material genetic cu gazdele lor. Acest schimb de gene, transfer genetic „orizontal” sau „lateral” (HGT sau LGT), permite evoluția virușilor și a gazdelor lor, dând lecții gazdei cu noi gene! Suttle estimează că în oceane au loc 10^{23} de infecții virale pe secundă, ceea ce generează o cantitate astronomică de HGT. Aceasta este baza pentru inovație și schimbări în celulele gazdă. Zilnic, are loc un total fantastic de 10^{27} de evenimente de liză. Cu toate acestea, printre acest număr gigantic de gene transferate este dificil să aflăm despre virușii care sunt produși recent. Nimeni nu știe ce să caute. Numărul total de fagi din oceane este de aproximativ 100 de ori mai mare decât numărul de bacterii. 80% din bacteriile din oceane sunt infectate cu fagi.

Studenții de la cursurile lui Curtis Suttles au fost surprinși. „Virușii sunt cool!” Bacteriile și virușii există de cel puțin 3,5 miliarde de ani. De atunci s-au înmulțit. Lumea microbiană din oceane reprezintă cea mai mare cantitate de biomasă de pe Pământ. 98% din biomasa totală de pe Pământ este conținută de viruși. În fiecare zi, aproximativ 20% din întreaga biomasă este lizată de fagi. Acest lucru permite reciclarea nutrienților, permițând altor organisme să se hrănească. Virusurile conduc la creșterea ratei de creștere a altor organisme din oceane, de exemplu a fitoplanctonului format din plante precum algele verzi sau albastre, din care oceanele conțin mai mult de 5000 de tipuri. Numărul total de gene din bacteriofage îl depășește pe cel al tuturor celorlalte specii de pe planeta noastră luate împreună. Virușii nici măcar nu exploatează toate posibilitățile genetice existente.

Secvențierea virusurilor după concentrarea și filtrarea lor din apa de mare este foarte reușită, dar numai dacă toate virusurile sunt secvențiate dintr-o dată, prin analizarea întregului „viróme” al apei. Cu toate acestea, nu este posibil să se identifice fagii individuali sau virușii mai mari. Următorul pas este sarcina de a diseca informațiile în continuare. Aceasta este dificilă și necesită mult timp, chiar și pentru cele mai mari computere. 90% din informațiile genetice din secvențe sunt necunoscute și nu au legătură cu nicio secvență cunoscută. Există atât de mulți viruși cu informații necunoscute! Acest lucru este destul de surprinzător. De unde provine toată informația? De la sine? Da, probabil, virușii încearcă totul, iar celula nu poate furniza toate informațiile genetice, pentru că pur și simplu nu are atât de multe. Majoritatea virușilor și bacteriilor nu pot fi cultivate în laborator și, prin urmare, nu pot fi testate cu ușurință. Numărul de fagi și alți viruși din oceane depinde de anotimp. Toamna și iarna, mulți fagi adoptă o stare intracelulară, numită și „lizogenă”: se integrează în genomul ADN-ului bacterian și locuiesc acolo, sau stau în afara genomului ca „epizomi” liberi - adesea sub forma unor cercuri închise - doar așteptând sau persistând într-o stare cronică liniștită fără a se manifesta. Ele cresc în peluze mari, biofilme. Acest lucru seamănă cu formarea de roiuri, în care membrii din cadrul roiurilor nu pot fi atacați cu ușurință de inamicii din exterior - în acest caz, de infecții. Numai atunci când bacteriile sunt stresate din cauza lipsei de nutrienți sau de spațiu, virușii sunt activați în comportament *litar,* se replică și își lizează gazdele. În ciuda numeroșilor viruși/fagi, se poate înota în oceane sau lacuri și chiar se poate bea apă - care poate conține atunci 10^{9} viruși pe înghițitură. În ciuda acestui fapt, persoana nu se îmbolnăvește - în orice caz, nu de obicei (dar uneori - a se vedea EHEC mai jos).

Fagii - virușii bacteriilor

Fagii sunt virușii din baterii. Fagii au fost descoperiți de Felix d'Herelle, la Institutul Pasteur din Paris, în 1917.



Infectarea unei celule (pro- sau eucariote sau celule tumorale sau chiar un virus gigant care poate fi, de asemenea, o „celulă") şi transferul de gene de către diverşi viruşi sau elemente asemănătoare virusilor, cum ar fi acizii nucleici virali sau străini goi sau împachetaţi, eventual prioni. Elementele transposablc (TEs) „virusuri blocate" în interiorul celulei ca gene săritoare.

Povestea descoperirii fagilor merită reamintită. D'Herelle, care era un autodidact şi un lucrător neremunerat (nu a fost niciodată angajat la Institutul Pasteur), a observat că într-un vas de cultură unele colonii bacteriene formau un halou lucitor neaşteptat. Haloul era cauzat de bacteriile lizate. Din această zonă a izolat, prin filtrare, bacteriofagi sau fagi - aşa i-a numit el, deoarece credea că fluxul conţinea organisme care „mâncau" (greacă: *fagein*) bacteriile. Descoperirea penicilinei a fost destul de asemănătoare. Şi acolo, halourile transparente din jurul coloniilor de bacterii indicau moartea acestora. Şi, în mod interesant, fagii şi antibioticele concurează până în zilele noastre în uciderea bacteriilor. D'Herelle a reuşit să ucidă bacteriile care provocau epidemii de diaree în Tunisia şi în alte locuri. El a verificat că fagii nu erau periculoşi şi a băut soluţia care conţinea fagi - fără să se îmbolnăvească. A avut dreptate. În schimb, persoana care a golit un pahar plin cu bacterii de holeră pentru a dovedi cât de inofensive erau acestea a fost chimistul Max von Pettenkofer; deşi a greşit, a avut noroc, deoarece bacteriile erau deja inactivate şi moarte. Dar fagii lui d'Herelle erau într-adevăr nepericuloşi.

„*Duşmanul duşmanului meu este prietenul meu*" - nu se ştie dacă d'Herelle a folosit această propoziţie, dar ar fi potrivită. Deja în 1917, el a raportat despre distrugerea bacteriilor de către fagi. El a observat că bacteriile provenite de la soldaţii cu diaree cauzată de dizenterie dispăreau în vasul de cultură deoarece fagii erau prezenţi. Cu toate acestea, colegii săi universitari nu au fost de acord, deoarece nu au reuşit să reproducă rezultatele sale. Acest lucru s-a datorat faptului că fagii şi bacteriile trebuie să se potrivească reciproc, deoarece ambele sunt foarte selective şi specializate. Nu şi antibioticele. Acestea pot inhiba replicarea bacteriană în mod neselectiv. În mod normal, nu este necesară testarea prealabilă a eficacităţii. Ele pot fi aplicate imediat şi sunt uşor de manevrat: este nevoie doar de o pastilă, nu sunt necesare teste biologice. În consecinţă, antibioticele, pe atunci în curs de apariţie, au depăşit fagii şi au distrus speranţele şi planurile lui d'Herelle. Tratamentul cu antibiotice a înlăturat complet terapiile cu fagi. Timp de multe decenii, fagii au fost doar un subiect de cercetare pentru oamenii de ştiinţă. Prevăd că acest lucru se va schimba din nou în curând, din cauza tuturor bacteriilor multirezistente care apar, care necesită acum şi testarea prealabilă a bacteriilor pentru a găsi antibioticele potrivite. Fagii vor avea marea lor revenire!

Fagii bacteriei *E. coli*, instrumentul de lucru al cercetării fundamentale, au fost numerotaţi de la tipul 1 la 7, de la T1 la T7. S-a demonstrat că fagii se pot lega de suprafaţa bacteriană şi îşi pot injecta ADN-ul, care este localizat în capul fagului, printr-o coadă contractilă în bacteriile selectate. Micrografiile electronice pot arăta fagii cu capetele lor extrem de simetrice şi antenele îndoite. Aspectul lor a devenit un simbol al virusilor, chiar dacă nu toţi viruşii arată la fel. Există fagi care nu au coadă sau antene. În plus, antenele se pierd uşor în timpul pregătirii pentru microscopul electronic. De fapt, am avut probleme în a găsi imagini frumoase ale fagilor pentru această carte! În interiorul bacteriei, ADN-ul fagului are două opţiuni. Poate supravieţui ca *epizom* în afara ADN-ului

bacterian, adesea în formă circulară, și se poate replica acolo, dând naștere la sute de progenituri de fagi și ducând la liza bacteriei. Alternativ, ADN-ul fagului se poate integra în cromozomul gazdei - un loc sigur pentru ADN-ul viral și, în mod normal, inofensiv pentru gazda bacteriană. Acest ADN, denumit ADN profag, este transmis generațiilor următoare ale bacteriei. Termenul „ADN profag” a fost folosit mult mai târziu de Howard Temin și a fost schimbat în „ADN provirus” pentru retrovirusuri, care se pot integra, de asemenea, ca ADN provirus în cromozomul celulelor gazdă și pot fi transmise generațiilor următoare. Retrovirusurile trebuie să își transcrie (în prealabil) materialul genetic din ARN în ADN, ceea ce reprezintă doar o etapă suplimentară. În afară de aceasta, fagii și retrovirusurile au multe în comun. Ce grad ridicat de conservare există, de la fagi la retrovirusuri! Trebuie să însemne că sunt înrudite și că acest mecanism prezintă un mare avantaj evolutiv.

Pentru bacterii, stresul poate activa fagul liniștit și poate pune capăt acestei stări temperate sau lizogene. Apoi, ADN-ul fagului este eliberat din genomul bacterian, iar bacteriile sunt lizate - starea litică - și sunt eliberate sute de noi progenituri de fagi. Există virusuri litice la mamifere (inclusiv la om) care se comportă într-un mod similar, cu excepția retrovirușilor, care în mod normal părăsesc celula gazdă prin înmugurire, fără a o liza.

Ce înseamnă „stres” în cazul bacteriilor? Aproape la fel ca în cazul nostru: lipsă de nutrienți, spațiu insuficient, creștere prea rapidă, condiții prea calde sau prea reci sau modificări generale ale mediului. Chiar și activarea factorilor de stres prin semnalizare poate fi comparată între bacterii și alte specii, inclusiv oamenii. Semnalele sunt transmise din exteriorul celulelor și au ca rezultat reglarea genelor la nivelul ADN-ului și al expresiei genelor. Îndepărtarea represorilor sau activarea activatorilor pot activa apoi liza celulară sau pot avea alte efecte asupra bacteriilor sau celulelor gazdă.

O creștere bacteriană excesivă poate apărea adesea în oceane prin influxul de nutrienți în exces proveniți din agricultura de pe câmpurile din jur. Îngrășămintele pot fi spălate de ploaie sau transportate de râuri în oceane, iar acolo se pot îmbogăți. Temperaturile ridicate din timpul verii pot spori și mai mult creșterea. Dacă în toamnă densitatea bacteriană este prea mare, fagii sunt activați, se replică în număr mare și își lizează gazdele bacteriene. Apoi spectacolul se încheie. Nutrienții se scufundă în sol, unde hrănesc alte organisme și sunt reciclați. Astfel, fagii sunt regulatori ai lanțului alimentar și furnizori de nutrienți pentru animalele din oceane și reglează densitatea populației de bacterii și alte gazde. Fagii sunt specialiști în dinamica populației.

Raportul dintre fagi și bacterii este de aproximativ 100:1 și poate ajunge până la 225:1, cu cât se pătrunde mai adânc în ocean. Fagii produc un efect special: lizează bacteria câștigătoare, deoarece aceasta este cea mai abundentă: „ucide câștigătorul” este motto-ul. În consecință, biodiversitatea este garantată, deoarece fagii îi împiedică pe câștigători să fie singurii supraviețuitori și să înlocuiască bacteriile mai puțin performante. În mod interesant, fagii oferă o șansă minorităților. Acest lucru îl poate face pe cititor să se gândească la alte societăți.

Liza este susținută de o enzimă numită *lizozimă*, care ar fi utilă ca terapie. Într-adevăr, cercetătorii - nu numai de la Institutul Federal Elvețian de Tehnologie, ETH din Zurich, ci și din alte părți - și-au mobilizat deja eforturile pentru a o produce și pentru a utiliza această enzimă de liză ca ucigaș de bacterii. De asemenea, foarte recent, bacteriile din intestinul uman au fost studiate pentru rolul fagilor temperați sau litici - numărul bacteriilor lizate și al fagilor liberi crește odată cu bunăstarea, deoarece o alimentație prea bogată - care duce la obezitate - are un efect similar cu cel al excesului de nutrienți în Marea Baltică! Acesta a fost unul dintre rezultatele obținute de expediția Tara Oceans prin oceane. Acesta este un rezultat surprinzător care se referă la unul dintre cele mai mici și mai mari ecosisteme, intestinul și oceanele.

Primele mele prelegeri la Institutul Max Planck de Genetică Moleculară au fost ținute la Berlin în urmă cu câteva decenii. La acea vreme, în anii 1970, cercetarea asupra fagilor se afla la apogeul său. Heinz Schuster, unul dintre directorii institutului, explora lumea fagilor, iar eu predam în propriul meu domeniu de cercetare, retrovirusurile. Gradul de similitudine dintre aceste două sisteme diferite, cele două lumi aparent îndepărtate ale fagilor și retrovirușilor, mă surprinde și astăzi și sugerează o dovadă a relației lor evolutive. Au ele strămoși comuni? Au fost genomurile

fagilor formate inițial în principal din ARN, ca în cazul retrovirușilor de astăzi? Cei mai mulți fagi conțin ADN-ul cu dublă spirală, mai stabil. Motivele posibile pot fi ratele de replicare, „progresul” în evoluție, de la ARN către mai mult ADN (a se vedea ultimul capitol). Fagii nu conțin transcriptaze inverse și nu le utilizează, în ciuda faptului că bacteriile conțin cantități incredibile de transcriptaze inverse, care ar putea transcrie cu ușurință un potențial ARN fagic în ADN. Numărul imens de transcriptaze inverse prezente în bacterii a fost descoperit abia recent și nimeni nu știa ce fac acestea acolo. Acest lucru a fost deosebit de surprinzător pentru mine, în calitate de specialist în transcriptază inversă - dar aceste informații sunt foarte noi. Au precedat retrofagele fagii ADN în cursul evoluției? Cunosc un singur „retrofag” care adăpostește o genă de transcriptază inversă: un fag al bacteriei *Bordetella pertussis* (care îi face pe copiii mici să tușească îngrozitor, speriind mamele tinere). Aceasta nu poartă nici măcar un nume. Transcriptaza inversă a fagului poate modifica un receptor de intrare celulară și conduce la mult mai multe tipuri de bacterii gazdă, un pas inovator interesant al RT predispus la erori (care provoacă această gamă mai largă de gazde). Chiar și astăzi, sunt încă surprins că niciun simpozion despre fagi nu include retrovirusurile. Și invers este la fel de adevărat: retrovirologii nu știu nimic despre fagi. Nu am văzut niciodată un rezumat despre fagi la o reuniune despre retrovirusuri sau invers (cu excepția rezumatelor mele, care nu au fost niciodată bine primite de organizatori!). Inițial, cercetătorii în domeniul fagilor erau cu mult înaintea retrovirologilor, dar acest lucru s-a schimbat; niciun virus nu a fost studiat vreodată la fel de intens ca retrovirusul HIV. Iar fagii au fost aproape uitați. Dar într-o zi - cred că în curând - acestea vor fi reînviate și ne vor putea salva - un raport de caz și câteva speculații cu privire la viitorul lor vor fi prezentate mai târziu.

O haină pentru pictor și un jurnal pentru cercetător

Max Delbrück a fost „papa” cercetării fagilor. În fiecare an venea la Berlin din Los Angeles, unde era profesor la Caltech, Institutul de Tehnologie din California. S-a născut la Berlin, unde strada Delbrückstraße poartă numele tatălui său, un istoric. Max Delbrück venea în fiecare an la Institutul Max Planck pentru Genetică Moleculară din Berlin, în calitate de membru străin extern. A venit nu numai din cauza fagilor, ci și din cauza noului său hobby de cercetare, fitomicetele, o ciupercă care se îndepărtează de perete atunci când crește. Un om de știință pacient, Enzo Russo, a investigat acest lucru împreună cu Max. Mecanismul este încă necunoscut, iar acest subiect nu i-ar fi adus Premiul Nobel. El îl primise mult mai devreme, în 1969, pentru cercetările sale asupra fagilor. Max a deschis ușa pentru cercetarea cu fagi. El a avut viziunea de a utiliza fagii și gazdele lor, bacteriile, ca model pentru viață, replicare, mutație și imunitate. Timpul de reproducere al bacteriilor este, în funcție de condițiile de creștere, de aproximativ 20 de minute. Apoi sunt eliberați sute de fagi. Timpul de generare pentru oameni este de câteva decenii, mult prea lung pentru rezultate rapide. Dar inițial nu era clar dacă reproducerea virușilor și a bacteriilor ar respecta aceleași reguli de viață și ar justifica comparația cu oamenii. Nu arătăm ca niște rude apropiate! Prin urmare, viziunea lui Delbrück asupra unui mecanism general, universal de replicare a vieții a fost ideea unui geniu. Într-unul dintre experimentele sale celebre, el a analizat rezistența bacteriilor la fagi și semnificația mutațiilor în acest sens.

Un alt motiv al vizitei lui Delbrück la Berlin a fost întâlnirea cu Jeanne Mammen (1890-1976), o pictoriță expresionistă, pe care el o susținea. Ea a supraviețuit celui de-al Doilea Război Mondial într-un apartament din curtea din spatele Kurfürstendamm. Singura ei cameră, traversată de o țeavă neagră groasă de cuptor, a fost casa și atelierul ei, cu un castan uriaș care privea prin fereastră. Acum este un muzeu în onoarea ei. Pereții erau acoperiți cu picturile ei, care abia după moartea ei au ajuns în marile muzee. I-a cerut lui Max o haină călduroasă de iarnă și i s-a dat propria lui haină. Era mult prea mare pentru ea, dar, din fericire, a purtat-o în timp ce bombele cădeau asupra Berlinului. Ea l-a portretizat pe Max. Portretul a devenit o pictură cubistă celebră, care a decorat prima pagină a broșurii programului în onoarea sărbătoririi centenarului Max Delbrück, în 2006, la Cold Spring Harbor. Max reușea întotdeauna să ajungă la Berlinul de Est pentru a vizita Berlin-Buch în perioada în care Zidul era ridicat. În fiecare lună, îi trimitea numărul

său personal din *Proceedings of the National Academy of Sciences* (PNAS) lui Erhard Geissler, colegul său, cercetător în domeniul fagilor şi virusurilor la Berlin-Buch, închis în spatele Cortinei de Fier. Însemnările sale în creion puteau fi încă văzute. Revistele au sosit mai întâi în saci, cu toate numerele anterioare, şi au iritat autorităţile vamale est-germane - unele containere chiar au dispărut. La acea vreme, revista nu era disponibilă nicăieri în Germania de Est, iar sosirea sa a stimulat puternic cercetarea în domeniul fagilor şi al virusurilor în Berlinul de Est. După deschiderea Zidului, institutul est-german a fost redenumit Centrul Max Delbrück (MDC), iar cafeneaua afiliată poartă numele soţiei sale, Manny. Aceasta a venit la inaugurarea MDC la începutul anilor 1990, împreună cu fiii ei, dar fără Max, care decedase. În ciuda vârstei sale înaintate, a venit încărcată cu un rucsac încă destul de neobişnuit pe atunci şi s-a ocupat de adunarea tuturor numeroşilor Delbrück, făcând programări telefonice, trecând printr-o lungă listă de telefoane, pentru a ieşi la o îngheţată.

În laboratorul Cold Spring Harbor, care a fost condus de Jim Watson timp de mulţi ani, se ţineau anual faimoasele cursuri despre fagi. Max Delbrück şi alţi oameni de ştiinţă, cum ar fi Gunther Stent, care a scris o carte celebră despre fagi, obişnuiau să predea acolo. Ei au format o întreagă generaţie de specialişti în fagi. În acest fel, cercetarea asupra fagilor s-a răspândit în întreaga lume. Delbrück a încurajat apoi cercetarea în domeniul fagilor la un institut din Köln, Germania, care a primit ulterior şi numele său. Era destul de strict şi exigent în discuţii şi, chiar dacă a fost acuzat că favoriza o abordare „neglijentă” a cercetării, aceasta era exact ceea ce el considera a fi calea de a face noi descoperiri; el considera inexactitatea drept un promotor al inovaţiei. Acest lucru este dovedit de inovatoarea transcriptază inversă neglijentă. Era un pic înfricoşător sau intimidant, după cum mi-l amintesc eu. A fost dezamăgit de descoperirea dublei helixuri. Ca fizician, care îşi începuse cariera la Copenhaga lucrând cu Niels Bohr la modelul atomic, se aştepta la un nou principiu al vieţii care să nu fie doar „fizic”. Întrebarea „Ce este viaţa?”, care a fost făcută celebră de fizicianul Erwin Schrödinger în timp ce era conferenţiar în exilul irlandez din timpul celui de-al doilea război mondial, a inspirat o întreagă generaţie de fizicieni. Această carte a devenit un clasic printre cărţile ştiinţifice ale secolului trecut - un reper al biologiei moleculare şi un semnal de alarmă pentru mulţi fizicieni, inclusiv pentru Max Delbrück. Fagul „lambda” a fost un fag model pentru cercetare. Mark Ptashne, de la Universitatea Harvard, l-a caracterizat extensiv şi a publicat o carte care a ghidat generaţii de studenţi prin reglarea genelor în fagul *lambda* - urmând principii care sunt valabile pentru aproape orice sistem biologic şi nu numai pentru fagi. După descoperirea dublei helixuri a ADN-ului, fagii au devenit un subiect de cercetare interesant pentru replicarea ADN-ului. Au urmat cercetări pe tema extrem de complexă a reglării genelor de către promotori şi reprimatori, suficient de complexă pentru a umple un cârlig gros. În timp ce ţineam o prelegere despre proteina Myc, un regulator al expresiei genelor în celulele eucariote analog cu proteinele fagilor, în institutul Ptashnes de la Harvard, în urmă cu aproximativ 30 de ani, acesta s-a ridicat pentru a-şi face o cafea - atât de informal încât m-a lăsat cu îndoieli serioase cu privire la calitatea prezentării mele. Cu toate acestea, în urmă cu doar câţiva ani, când a ţinut o conferinţă la Princeton, m-a recunoscut în public şi a coborât de pe scenă pentru a-mi ura bun venit - din nou spre surprinderea mea. Am crezut că m-a confundat cu altcineva, dar nu, nu a fost cazul!

Nu suntem singuri - suntem un superorganism

Suntem un ecosistem, cu bacterii, viruşi, arhaea şi ciuperci în interiorul şi în exteriorul corpului nostru, toţi trăind într-o comunitate strânsă. Nu le putem elimina cu apă şi săpun - şi nici nu ar trebui să încercăm, pentru că aparţinem aceluiaşi grup. Prea multe duşuri pot face rău! Acest lucru trebuie să fie explicat.

„Microbiota” totală cuprinde toate bacteriile şi alte microorganisme care populează corpul nostru, în interior şi în exterior. În fiecare an, revista *Science* enumeră cele mai importante zece descoperiri ştiinţifice ale anului, printre care, în 2011 şi 2013, s-a numărat şi descoperirea microbiomului. Microbiomul cuprinde toate microorganismele, bacterii, virusuri, arhaea, ciuperci

etc. - indiferent dacă sunt cunoscute sau nu, dacă se pot sau nu cultiva sau caracteriza, - doar secvenţele totale sunt determinate, o abordare globală! Motto-ul este: „Fă-le pe toate”! Tehnicile de secvenţiere s-au îmbunătăţit atât de mult, au devenit atât de ieftine şi au luat o asemenea amploare, încât astăzi putem secvenţia tot ce ne putem imagina: microbiomul de toate tipurile din intestine, din canalul de naştere, din salivă, piele, nas, plămâni şi orice altceva. Am învăţat că organismul uman este un ecosistem. Fiecare are propriul microbiom, ca un cod PIN personal. Rezultatele au fost atât de spectaculoase încât toate ziarele au relatat despre ele. Noua descoperire este cât de multe microorganisme populează corpul nostru: cifrele sunt enorme. Datele au fost obţinute, printre altele, de *Human Microbiome Project* (HMP), dedicat analizei microbiomului uman. Într-un fel, HMP este succesorul Proiectului Genomului Uman, care a fost îndreptat spre secvenţierea genomului nostru, a tuturor genelor noastre. Pentru HMP, iniţial 242 de cetăţeni americani sănătoşi au fost supuşi în mod repetat prelevării de probe de pe diferite părţi ale corpului lor - 5 000 în total - pentru secvenţiere. Au fost studiate 178 de genomuri ale microbilor care trăiesc în şi pe corpul uman. Microbii rari s-au dovedit a fi de o variabilitate relativ ridicată, în timp ce populaţiile celor abundenţi prezentau o complexitate mai redusă: aceştia dobândiseră avantaje de creştere şi îi puteau depăşi pe ceilalţi, astfel încât dominau mai puţine tipuri. Complexitatea a fost enormă. Cele mai multe populaţii de bacterii sunt prezente în intestinele şi cavităţile corpului nostru, pe piele, în cot, în spatele urechii şi (mai puţin) în vagin. Microbiomul axilelor este diferit de cel al antebraţelor. Există aproximativ 44 de specii pe braţe - cea mai bogată comunitate din partea exterioară a corpului. Microbiomul vaginului a fost deosebit de stabil şi de complexitate scăzută. Microbiomii din anumite părţi ale corpului au mai multe în comun cu aceleaşi părţi ale unei alte persoane decât cu alte părţi ale aceluiaşi corp.

Prin urmare, abordarea metagenomică este singura posibilă - cuvântul „metagenomică” fiind derivat din „meta-analiză” (o procedură utilizată în statistică pentru a face comparabile rezultate diferite) şi genomică (informaţiile genetice complete). Imaginaţi-vă: 99% din toate microorganismele existente sunt necunoscute şi nu pot fi analizate prin alte mijloace.

Rezultatele Proiectului privind microbiomul uman au adus mai multe surprize. În primul rând, majoritatea microbilor nu provoacă boli. Un număr astronomic de bacterii, viruşi şi ciuperci sunt prezente nu numai în intestinele noastre, ci şi pe suprafaţa exterioară a corpului nostru. Multe dintre ele sunt esenţiale pentru cerinţele elementare, cum ar fi furnizarea de vitamine sau digerarea alimentelor pe care nu le putem procesa singuri. Ele sintetizează vitamine, detoxifică agenţii cancerigeni şi metabolizează medicamentele (ar fi bine să aflăm mai multe despre acestea!). Viruşii şi bacteriile ne influenţează sistemul imunitar şi ne protejează împotriva microbilor străini care sunt mai susceptibili de a fi patogeni pentru noi. Astfel, cele utile le pot controla pe cele dăunătoare, ceea ce înseamnă că cele cunoscute ne apără împotriva celor necunoscute! Intestinele noastre nu sunt un câmp de bătaie pentru lupta microorganismelor; nu există un război, ci mai degrabă o homeostază, o comunitate echilibrată şi stabilă. Şi apărarea noastră împotriva străinilor!

A doua surpriză constă în cifre: Între 1000 şi 2000 de tipuri diferite de bacterii pot fi detectate în fecalele noastre, iar masa lor totală se ridică în mod normal la aproximativ 1,5 - 2 kg. Corpul nostru este format din 10^{13} celule în total şi găzduieşte aproximativ 10^{14} microbi. Doar aproximativ 10% din celulele noastre sunt cu adevărat celulele corpului nostru. Trebuie să adăugăm şi cantitatea necunoscută de *arhaea*. Numărul total de viruşi sau fagi din intestinele noastre poate fi doar estimat: 500 dintre acestea au fost recunoscute, dar majoritatea sunt încă necunoscute. Viromurile, sau „virosfera”, care cuprinde toate secvenţele virale dintr-un eşantion, sunt cel mai dificil de analizat, deoarece căutarea secvenţelor necunoscute este o problemă specială - doar cele cunoscute pot fi găsite cu uşurinţă. Mulţi viruşi nu pot fi cultivaţi în condiţii de laborator, astfel încât nu pot fi analizaţi. Poate că există 1000 sau 5000 sau chiar mai mulţi? Trebuie să dezvoltăm programe de căutare pentru a le găsi. Un rezultat recent indică faptul că majoritatea fagilor rămân în interiorul bacteriilor lor şi sunt eliberaţi doar în condiţii nesănătoase - acesta este probabil să fie un instrument de diagnosticare în viitor, numărul de virusuri libere versus intracelulare din fecale - care ar fi un indicator al bolilor dacă raportul ar fi mare. Acest raport poate fi determinat chiar şi în salivă, la celălalt capăt al intestinelor noastre!

Apoi, nu trebuie să uităm de ciuperci, care nu au fost investigate atât de amănunțit. Aproximativ 1 000 de tipuri de ciuperci sunt cunoscute în medicină. Doar aproximativ 100 dintre acestea pot fi diagnosticate în laboratorul de diagnosticare a ciupercilor de lângă biroul meu din Zurich. În total, există unul sau poate două milioane de tipuri diferite.

Microbii contribuie cu mai multe gene responsabile pentru supraviețuirea oamenilor decât oamenii înșiși. Se estimează că genele bacteriene care codifică proteine sunt de 360 de ori mai abundente decât genele umane. Peste 8 milioane de gene microbiene unice sunt asociate cu microbiomul din corpul uman. Acestea contribuie la starea noastră de bine - sau de boală - într-o măsură pe care nu o putem estima încă. În comparație cu numărul total de gene umane autentice (20.000), aceasta sugerează că contribuția genetică a microbiomului, care se ridică la câteva milioane de gene, este de multe sute de ori mai mare decât contribuţia genetică a genomului uman. Microbiomul este „al doilea genom” al nostru. Virușii și ciupercile pot fi al treilea și al patrulea genom al nostru! Aceasta face din noi un superorganism.

Studiile efectuate pe gemeni, prin compararea microbiomului acestora, au indicat că doar gemenii identici (monozigoți) prezintă asemănări în microbiomul lor; asemănările cu microbiomul mamei sau al altor rude sunt mult mai slabe. Microbiomele sunt atât de diferite încât ar putea fi utilizate în scopuri medico-legale, pentru a identifica o persoană după microbiomul său individual. Este posibil ca secvențierea microbiomului călătorilor înainte ca aceştia să treacă prin punctele de control vamal să fie un pic prea complicată, în cazul în care, într-o zi, documentele de identitate cu fotografie se vor dovedi insuficiente! Poate că analizele microbiomului vor întâmpina mai puține probleme juridice decât analizele genomului și poate că, în curând, vor putea fi realizate aproape în cel mai scurt timp - cine știe?

Dacă saliva noastră reflectă destul de bine complexitatea genetică unică în scopuri diagnostice sau medico-legale, atunci mă întreb dacă un sărut sau un contact strâns între membrii unei familii s-ar putea dovedi a fi un fel de procedură de echilibrare sau o ajustare a microbiomului - cât de ne-romantic! Influențează microbiomul atracția sau respingerea între oameni? Dragostea?

În cele din urmă, dacă suntem un ecosistem și dacă toate genele străine contribuie la propriile noastre gene, putem deveni filosofici pentru o clipă și să ne întrebăm „Ce este o ființă umană?” - „Cine sunt eu?” Poate microbiomul chiar să influențeze decizia „liberă”? Ce se întâmplă dacă microbiomul nu este sănătos? Fiecare terapie cu antibiotice va modifica dramatic microbiomul și va contribui la apariția bolilor inflamatorii intestinale (BII), cum ar fi boala Crohn (a se vedea mai jos).

Dacă luăm în considerare cronologia dezvoltării vieții pe planeta noastră, atunci trebuie să concluzionăm că noi, oamenii, suntem ultimii veniți într-o lume preexistentă de microorganisme. Acestea au existat cu mai mult de 3 miliarde de ani înaintea noastră. În mod firesc, au supraviețuit doar aceia dintre strămoșii noștri care au putut face față mediului lor. Acest lucru a dus automat, în cele din urmă, la o coexistență pașnică. Specialistul în virome Forest Rohwer din San Diego ne descrie drept „incubatoare vii” pentru virușii. Acest lucru nu sună ca și cum am fi niște ființe create de divinitate - ci mai degrabă ca niște stații de service pentru microorganisme! În principiu, noi nu suntem deloc necesari pe Pământ. Lumea microbiană poate exista perfect fără noi. Microbii ne vor supraviețui oricum, la fel cum au fost aici înaintea noastră. Ei sunt mult mai flexibili și mai adaptabili decât noi, așa că vor supraviețui catastrofelor - așa cum au făcut-o și înainte. Invers nu este adevărat: noi nu putem trăi fără microorganisme. Avem nevoie de microbi pentru digestia alimentelor noastre zilnice și pentru protecția împotriva altor microbi patogeni. Suntem dependenți, și nu superiori.

Cezariană, lapte și o genă „sushi”

Microbiomul gemenilor identici și cel al mamei și al copilului seamănă mai mult între ele decât cu cel al altor persoane. Cu toate acestea, în ciuda acestei diversități, există o populație „centrală” comună a microbiomului intestinal care cuprinde aproximativ 50% din totalul de 3,3 miliarde de gene bacteriene care populează corpul nostru. Flora tractului digestiv al unui nou-născut

este transmisă de microbiomul mamei în timpul naşterii, din canalul de naştere şi vagin. Microbiomul iniţial va dura câţiva ani şi, deşi se schimbă în timpul copilăriei, adolescenţei sau vârstei înaintate, totuşi, într-o anumită măsură, poate avea o influenţă pe tot parcursul vieţii. Primul microbiom este denumit „specie pionieră”. În schimb, copiii născuţi prin cezariană, operaţie de cezariană, intră pentru prima dată în contact cu microbiomul pielii mamei lor (sau al unei asistente sau al unui medic!), care diferă de cel al canalului de naştere. Germenii din mediu cu germeni putativi specifici spitalului capătă o importanţă mai mare. Copiii prematuri sunt adesea născuţi prin cezariană şi, prin urmare, sunt deosebit de expuşi riscului. Conform unor studii recente, copiii născuţi prin cezariană au un risc mai mare de a dezvolta alergii sau astm mai târziu în viaţă. O floră sănătoasă a mamei protejează nou-născutul împotriva pericolelor din mediu. Unele spitale sau mame preferă cezariana, deoarece operaţia poate fi planificată. Cel mai proeminent exemplu este practica din Orientul Îndepărtat, unde, în unele ţări, 90% dintre naşteri sunt prin cezariană. Astfel, alergiile din ţări precum China pot creşte puternic în continuare. Nu se mai discută dacă suspensiile bacteriene ar trebui aplicate în timpul procesului de naştere ca o măsură preventivă, un duş de bacterii vaginale ale mamei sau comune ca primă întâlnire cu lumea - nu mai este o viziune, ci realitate!

Din nou: microbiomul cunoscut protejează împotriva celui străin. Nu putem spune că cel bun protejează împotriva celui rău - pentru că cel rău poate fi bun pentru alţii. Amintiţi-vă că, dacă mergem în vacanţă în străinătate şi bem apă la fel ca localnicii, care sunt obişnuiţi cu ea, în timp ce noi ne putem îmbolnăvi.

Cât timp este nevoie pentru ca organismul să se adapteze la digestia alimentelor neobişnuite? Natura a realizat un astfel de experiment pentru noi - se numeşte „intoleranţă la lactoză”. Acum aproximativ 10.000 de ani, majoritatea oamenilor din Europa şi Africa erau vânători şi culegători. Ei şi-au schimbat modul de viaţă şi au devenit fermieri, cu animale domestice şi alimente diferite - cum ar fi laptele. Pentru a digera laptele de vacă, a fost nevoie de o mutaţie. Chiar şi astăzi, 15% dintre europeni nu au această mutaţie - ca mine - şi nu pot digera laptele. Este amuzant să observăm că în cazul intoleranţei la lapte eu sunt „tipul sălbatic”, iar cei care pot tolera laptele sunt mutanţii. Nord-europenii au mutaţia şi pot digera laptele, ceea ce ajută la producerea vitaminei D dacă există puţină lumină solară, cum este cazul în Scandinavia. 75% din populaţia lumii nu poate digera laptele. Adaptarea s-a produs prin mutaţie acum aproximativ 10 000 de ani. Strămoşii mei au ratat-o. Există pastile împotriva intoleranţei la lactoză - un extract din stomac de vacă, care conţine enzima lactază lipsă. Nu mă ajută prea mult. Cunoştinţele despre intoleranţa la lactoză se răspândesc încet. Nu cu mult timp în urmă, laptele a fost trimis sub formă de pudră în Africa împotriva malnutriţiei - şi a făcut mai mult rău decât bine, deoarece africanii au intoleranţă la lactoză şi mult soare.

Se pare că chinezii au intoleranţă la lactoză; cu toate acestea, laptele a devenit recent un articol important şi popular importat în China din alte ţări, iar în China producţia de lapte s-a intensificat. Cea mai surprinzătoare întorsătură în acest scenariu este noua modă în materie de nutriţie: cumpărarea de lapte fără lactoză fără nicio necesitate, chiar şi pentru persoanele fără intoleranţă la lactoză - foarte surprinzător. Desigur, costă mai mult! Acest lucru se întâmplă şi cu glutenul, o componentă a grâului - există o afecţiune de intoleranţă la gluten, boala celiacă, dar mulţi oameni sănătoşi cumpără acum şi pâine fără gluten - ceea ce mă face să reflectez asupra puterii unei bune publicităţi.

Cât timp durează adaptarea la un nou obicei alimentar? O mutaţie sporadică a avut loc acum 10.000 de ani - un eveniment rar. Se poate accelera procesul? Poate că mutaţiile nu sunt necesare. Japonezii consumă alge, pe care noi, europenii, nu le putem digera atât de bine. Putem dezvolta o „genă *sushi*”? Într-adevăr, au fost găsite mai multe! Genele au fost adoptate din alge şi preluate de bacteriile intestinale, astfel încât bacteriile s-au adaptat pentru a digera *sushi*. Mecanismul de transfer orizontal de gene este cea mai reuşită modalitate de a „învăţa” ceva nou şi rapid. Adesea, fagii sunt purtătorii şi ajută prin medierea transferului de gene către o nouă gazdă. Acesta este un bun exemplu pentru a demonstra că virusii/fagii sunt „profesorii” noştri de gene, motoarele evoluţiei.

O manifestare mai înspăimântătoare a acestui tip de transfer orizontal de gene (HGT) este transferul de gene de rezistență la antibiotice. Genele toxinelor, de asemenea, sunt transferate de fagi și au cauzat EHEC, cel mai mare scandal alimentar din Germania. Sunt acestea o amenințare reală? - Nu, atâta timp cât bacteriile din fecalele animalelor nu sunt folosite pentru a ne decora salata. Dar gena ciocolatei, pe care elveții par să o aibă? O poate dobândi cineva? Asta s-a întâmplat deja, mutația toleranței la lactoză descrisă mai sus.

Viruși împotriva încălzirii globale și a producției de ouă

Virușii pot fi benefici - acest lucru trebuie explicat. Virușii cooperează și concurează și adesea profită de oportunități în avantajul lor. Transferul orizontal de gene poate avea loc în ambele direcții; genele pot fi furnizate unei celule, iar genele pot fi transportate în afara celulei. Este prima direcție cea mai frecventă? Apoi există „virușii ajutători”; un virus poate ajuta un altul. Virusurile defectuoase pot utiliza un strat proteic de la un virus nedefectuos prezent în aceeași celulă: îl împart. Virusurile benefice pot chiar să repare defectele genetice ale unei celule - dar atenție, acest lucru este adesea benefic nu numai pentru celula gazdă, ci și pentru virusul însuși: dacă un virus ajută o celulă să supraviețuiască mai bine, atunci există mai mulți progenituri și pentru virus. De asemenea, eliminarea supresorilor tumorali de către viruși este un astfel de caz - celula trăiește mai mult în acest fel și va garanta mai multă progenie virală. Prin urmare, cel mai bine este ca ambele să aibă un avantaj - mutualismul este cuvântul potrivit pentru aceasta. Virusurile „benefice” includ chiar virusurile herpetice, adenovirusurile, fagii și virusurile plantelor. Infecțiile cu adenovirusuri pot proteja împotriva creșterii tumorilor, iar virusurile herpetice pot suprima HIV sau bacteriile. Sănătatea unui băiat bolnav de leucemie s-a îmbunătățit în urma unei infecții cu *poxvirus*. Aceste așa-numite „viroterapii” datează de aproximativ 100 de ani și se bazează pe reacții acute și puternice de apărare imunologică a organismului, care sunt provocate de un agent, dar care sunt eficiente - nespecific - și împotriva altor boli. Este posibil ca unele vindecări inexplicabile să fi fost provocate în acest fel.

În plus, fagii pot acționa ca ajutători. O celulă gazdă al cărei ADN este afectat de radiații poate primi sprijinul unui fag în repararea ADN-ului defect. Fagii Lambda pot ajuta chiar la repararea bacteriilor gazdă moarte, făcând posibilă producerea (proprie) a mai multor progenituri. Iar bacteriile sănătoase le înlocuiesc pe cele patogene în microbiota intestinului nostru.

Un exemplu foarte impresionant de plante poate fi relevant pentru aprovizionarea viitoare cu alimente, pentru a salva omenirea de foamete: virușii pot ajuta la combaterea încălzirii globale! În Parcul Național Yellowstone există o iarbă, *Dichanthelium lanuginosum*, care poate crește la temperaturi de peste 50°C, dar numai cu ajutorul unei ciuperci și al unui virus, într-o simbioză triplă. Planta are nevoie de ciupercă, iar ciuperca are nevoie de virus. Virusul are un nume sugestiv: *Curvularia thermal tolerance virus* (CThTV). Virusul induce rezistența la căldură a plantei acționând prin intermediul ciupercii. Sunt deci necesare mai multe etape. Este vorba, de asemenea, de un ajutor egoist, deoarece bunăstarea gazdei garantează, la rândul său, mai multă progenie virală. Ajutorul prin mutualism corespunde în terminologia modernă a afacerilor unei strategii „*win-win*”. Există chiar discuții cu privire la cine este adevărata gazdă a virusului, ciuperca sau planta. Dacă se elimină virusul, planta își pierde termorezistența. Modul în care virusul poate fi atât de util este investigat în prezent prin analiza transcriptomului - adică prin profilarea expresiei transcriptelor tuturor genelor activate. Deloc surprinzător, genele de osmoză par să ajute planta, consolidându-i rezerva de apă în timpul secetei. S-a constatat că un zahăr este implicat în deshidratare și este redus de virus. De asemenea, un pigment (melanina) contribuie în ciupercă la toleranța la stres. Va trebui să aflăm mai multe despre acest lucru, pentru a lupta împotriva încălzirii globale în agricultură. Fermierii din California ar putea fi nevoiți să genereze noi viruși pentru a asigura supraviețuirea culturilor lor de migdale. Producția unei singure migdale necesită 4 litri de apă. Adesea, apa fosilă - veche de peste 4 miliarde de ani - este obținută prin forare. În prezent, forajul duce la o afundare a întregului stat California cu 5 cm în fiecare lună!

Cea mai surprinzătoare consecință a unui virus benefic este dezvoltarea placentei umane prin intermediul unui retrovirus. Datorită unui virus, oamenii nu trebuie să depună ouă, ci embrionii se pot dezvolta în interiorul corpului. Retrovirusurile pot induce imunodeficiența, o proprietate care a cauzat una dintre cele mai mari catastrofe ale omenirii, epidemia de SIDA, cauzată de HIV. Capacitatea unui virus înrudit cu HIV de a suprima sistemul imunitar permite unui embrion să se dezvolte în uterul mamei fără a fi respins de sistemul imunitar al acesteia. Proteina de înveliș **Env** a unui retrovirus endogen uman defect, abreviat HERV-W, a devenit parte din placenta mamei; mai precis, a format *trofoblastele syncytia multi-nucleate* și induce o deficiență imunitară locală care permite embrionului să crească. Mamiferele nu au nevoie de o coajă de ou, ca păsările, sau de o pungă, ca cangurii, pentru a permite embrionilor să se maturizeze într-un compartiment separat, în afara corpului mamei. Similaritatea proteinei de suprafață **Env** a HERV-W și a HIV este izbitoare. Exact 20 de aminoacizi pot fi identificați în ambele ca secvență relevantă și pot fi detectați în proteina transmembranară **gp41** de astăzi. În mod surprinzător, un test HIV simplu, utilizat adesea în prezent, se bazează pe sinciții: mai multe celule sunt fuzionate și formează celule gigant care conțin multe nuclee, care pot fi detectate cu ușurință la microscopul optic. Astfel, ceea ce face astăzi din HIV un virus mortal a condus mai devreme în timpul evoluției la unul dintre cele mai mari avantaje ale omenirii, dezvoltarea placentei. Poate că există mai multe astfel de proprietăți pentru care virușii sunt responsabili fără ca noi să știm. Nu știu dacă *sincizia* din uter a fost benefică și pentru virusul antic; este posibil să fi existat o strategie de supraviețuire superioară. HERV-W este înrudit cu virusul endogen al oilor *Jaagsiekte sheep retrovirus* (enJSRV), care este încă prezent atât ca virus endogen, cât și ca virus exogen. Prima oaie clonată Dolly a murit din cauza acestuia. Acest virus nu se află încă în echilibru între starea exogenă și cea endogenă - ceea ce este destul de surprinzător, deoarece se crede că a existat în ultimii cinci până la șapte milioane de ani. Thierry Heidmann, la Paris, a detectat o a doua moleculă de *sincitire*, iar secvențe similare de *sincitire* pot fi găsite, de asemenea, în multe specii de animale; aceste secvențe includ RELIK menționat mai sus, vechiul virus al iepurilor și al altor mamifere, cum ar fi pisicile și câinii. Endogeneizarea virusurilor *sincitice* a avut loc în urmă cu 25 până la 40 de milioane de ani. Recent au fost descrise chiar și pentru porci și cai *sinciții* virale pentru placentă - pentru 18 virusuri diferite și multe specii până acum. Acestea nu sunt toate înrudite, astfel încât este posibil ca *sincitele* să fi fost „inventate” de mai multe ori. Cel mai recent, HERV-W și proteina sa de acoperire **Env** au fost găsite în mai multe boli umane, cum ar fi scleroza laterală amiotrofică (ALS), scleroza multiplă (MS) și chiar diabetul de tip II. Un vaccin împotriva proteinei de acoperire **Env** este în curs de cercetare. În plus, un virus, virusul SM, a primit deja un nume: retrovirus SM (MSRV). Sunt acestea cazuri singulare? Timpul ne va spune.

Un virus plin de gene de viespe - este acesta un virus?

Virusul meu preferat este virusul poli ADN PDV, un virus al insectelor, deoarece nimic în legătură cu acest virus nu pare „corect”. Nu se încadrează în nicio schemă cunoscută de clasificare a virusurilor. În primul rând, nu are un genom. Acesta nu este gol, dar ADN-ul provine de la gazdă și este într-adevăr o mulțime de ADN, 30 de plasmide ADN, ADN-uri circulare. Acest lucru face din PDV o excepție, cu mult ADN străin, și i-a dat numele său, virusul poli-ADN. În plus, nu infectează celulele pentru propria sa replicare, ci mai degrabă ajută gazda să producă descendenți; face acest lucru chiar și fără gazdă. Acesta este un fel de partajare a muncii și de subcontractare - ceea ce este benefic pentru progenitura gazdei și, în cele din urmă, un avantaj și pentru virus. Virusul are, desigur, și propria sa informație genetică - dar aceasta nu se află în particula sa; în schimb, este delegată genomului gazdei, ca să spunem așa, prin externalizare. ADN-ul viral este integrat în genomul gazdei, viespea mamă, și garantează producerea de noi particule de virus în ovarele acesteia. Viespea-mamă secretă ouăle și, odată cu ele, virusul, și le injectează pe toate în cavitatea corporală a omizilor. Acum virusurile eliberează cele 30 de plasmide ADN cu informații genetice pentru toxine, care sunt produse și ucid omida. Rezultă astfel hrană predigerată pentru viespile

tinere. Aceasta este o inversare perfectă a rolurilor: viruși cu gene de gazdă și gazde cu gene de virus.

Acest lucru ne face să ne punem întrebări cu privire la definiția unui virus, care își oferă toate genele proprii gazdei și o lasă fără ele. Cum ar putea genera vreodată progenituri virale? Răspunsul este simplu: toate viespile nou-născute poartă genele virale în genomul lor, moștenite de la viespea mamă, și într-o zi vor repeta ciclul. Acesta este modul în care PDV se reproduce. Este o reproducere verticală de la o generație la alta, asemănătoare cu cea a virușilor endogeni. Cu toate acestea, nu este vorba de viruși endogeni autentici, deoarece particulele exogene reale își părăsesc gazda. Aș dori să includ virușii ciudați precum PDV în definiția virușilor în general: virușii ca purtători de gene pentru transferul de gene. PDV-urile nu sunt chiar rare, ci există aproximativ zeci de mii de astfel de tipuri de virusuri ale insectelor. Acest lucru pare să fie reciproc avantajos, cu excepția omizii, care, cu toate acestea, prezintă și ea un comportament ciudat. Este în pericol de moarte din cauza virusului și a viespilor tinere, dar totuși le apără împotriva invadatorilor străini care încearcă să le atace coconul. Astfel, își ajută viitorii ucigași. Acesta este uneori numit comportament de „maternitate”. Poate că omida își poate amâna moartea. Absorbția genelor de către omidă s-a dovedit, în 2015, ca fiind o protecție împotriva altor viruși. Prin urmare, există un oarecare mutualism și beneficii și pentru omidă. O astfel de interacțiune neobișnuită virus-gazdă, un virus pe jumătate endogen și pe jumătate exogen, poate fi foarte veche din punct de vedere al evoluției. Cu o reducere și mai mare a stilului de viață, virusul ar putea să nu poată părăsi niciodată celula și ar deveni complet endogen - sau a fost invers, virușii blocați au devenit mobili?

Se pare că există cicluri de viață similare cu virușii și viespile în cazul omizilor și al așa-numiților fluturi „Monarh”, precum și al moliilor.

Acest exemplu pare a fi un principiu foarte reușit al naturii, care merită imitat: Virusurile ca vehicule pentru transferul de gene, nu pentru genele proprii, ci pentru gene străine, constituie un adevărat experiment de terapie genică conceput de Natură. Virusul este golit și reumplut cu gene otrăvitoare - sau gene curative pentru terapia genică. Exact în același mod, oamenii de știință proiectează terapii genice. Terapia genică cu PDV este specială, deoarece implică un tratament local. O abordare similară cu cea adoptată de PDV este, de asemenea, urmărită în terapia genică *ex vivo* cu aplicare locală (topică) pentru oameni. Prin urmare, această abordare a existat cu mult înainte ca cercetătorii și terapeuții genici să se gândească la ea și, până în prezent, nu am avut nici pe departe același succes ca PDV.

Prionii - pot face fără gene

Virușii cu gene de la gazdă fără gene proprii sunt ciudați, dar și mai surprinzători sunt virușii fără gene deloc, fără nicio informație genetică. În prezent, acestea nu sunt definite ca viruși, ci ca **prioni**. Acest termen **prion** este o fuziune între „proteină” și „infecție”, inventat de Stanley Prusiner. Aceste entități excepționale sunt posibil să fie o altă variantă a virusurilor, constând doar din proteine, fără acizi nucleici. Majoritatea oamenilor de știință le exclud din categoria „virușilor” - personal cred că sunt doar o altă variantă a unei teme, și anume virușii ciudați!

Chiar și atunci când Stanley Prusiner a primit Premiul Nobel pentru descoperirea **prionilor**, rezultatele sale au fost foarte controversate. Particule infecțioase fără acid nucleic? - părea total imposibil. El își descria rezultatele în cadrul unei conferințe la Bethesda în 2001, când primul turn al World Trade Center a fost lovit de un avion, la „9/11” - și a coborât de pe podium. Eram cu toții pietrificați.

Dovada că **prionii** nu conțin acizi nucleici infecțioși cu metode ultrasensibile a venit de la Prusiner împreună cu Detlev Riesner, susținând natura lor „doar proteică”. Dar mulți cercetători au încercat să infirme această ipoteză. Unul dintre ei a fost Charles Weissmann din Zurich. Acesta a suferit o convertire paulină și a ajuns în cele din urmă să creadă în **prioni**. La vârsta de 80 de ani, el a demonstrat, în calitate de șef fondator al noului Institut Scripps Florida, că **prionii** pot dobândi mutații care pot fi moștenite. Acest lucru apropie conceptul de **prioni** de cel de virus. Weissmann fusese anterior foarte critic și se pare că dorea să se convingă singur. Cu mulți ani în urmă, el a

eliminat **prionii** la șoareci și a arătat cât de sănătoși arătau aceștia, ajungând la concluzia corectă că trebuie să aibă mai mult de o genă **prionică**. Weissmann a arătat, de asemenea, că acele de argint utilizate în chirurgia creierului pot transmite boala **prionică**, deoarece **prionii** se lipesc puternic de ace și rezistă tuturor procedurilor de dezinfecție. **Prionii** tolerează căldura: pentru a-i inactiva, trebuie să fie încălziți într-o autoclavă cu aburi la 120°C timp de două ore. Boala Alzheimer ar putea fi, de asemenea, transmisibilă într-un mod iatrogen similar, cauzat în mod neintenționat de un tratament medical - cel puțin conform speculațiilor recente.

Toată lumea a auzit de „boala vacii nebune”, encefalopatia spongiformă bovină (ESB), în care **prionii** sunt, de asemenea, foarte probabil să fie implicați, și mulți își vor aminti știrile de la televizor care arătau pisici arse în Marea Britanie. Răspândirea ESB printre pisici a fost un proces creat de om, ca rezultat al hrănirii lor cu furaje nepotrivite! Animalele bolnave au fost măcinate și date să mănânce pisicilor sănătoase, transmițând astfel ESB, deoarece furnizorii au simplificat procedura de producție prin reducerea temperaturii de inactivare a potențialilor contaminanți. Unii clienți au crezut că au făcut o afacere și au importat furaje ieftine pentru vite, dar au importat și boala. Acest lucru a fost discutat ca o posibilă sursă de infecții cu ESB în Elveția.

Prionii și ESB pot duce la boala Creutzfeldt-Jakob (CJD), *kuru* la om și *scrapie* la oaie. Denumirea generică este „encefalită spongiformă transmisibilă” (EST). Boala *kuru* a fost descoperită de Carleton Gajdusek în Papua Noua Guinee și a fost atribuită, de asemenea, alimentației nesănătoase: el a putut lega canibalismul de boală. Băștinașii consumau oameni, creierele fiind rezervate în mod special bărbaților - dar tocmai creierele erau contaminate preferențial cu *prioni*, ceea ce ducea la invaliditate, epuizare, demență și deces în principal al bărbaților. Gajdusek a călătorit în locuri îndepărtate și a putut demonstra această legătură între canibalism și moarte. Ca urmare, canibalismul a fost interzis. El a adus în SUA 60 de băieți din călătoriile sale, i-a educat, le-a sponsorizat diplomele universitare și i-a trimis înapoi în țările lor de origine pentru a ocupa funcții de conducere. Într-o zi, pe coperta unei reviste americane a apărut o fotografie a laureatului premiului Nobel - încătușat. Unul dintre băieți îl acuzase de abuz sexual. Robert Gallo a plătit o sumă mare pentru cauțiune, care, însă, nu l-a ajutat pe Gajdusek decât tranzitoriu împotriva încarcerării.

Scrapie a fost transferată oilor din Islanda de oile germane importate, deși această boală nu apăruse niciodată la oile din mlaștina din nordul Germaniei, cu peisajele sale verzi și diguri. Oile germane trecuseră, de asemenea, prin carantina necesară. Cu toate acestea, în Islanda au fost înghesuite împreună chiar înainte de tundere, ceea ce a dus la răspândirea bolii. Cu toții ar trebui să ținem cont de acest lucru: aglomerația crește riscul de epidemii.

Proteinele prionice sunt prezente în toate organismele și sunt prezente în concentrații ridicate în creier. Acestea joacă un rol în dezvoltarea normală a creierului, în timpul neurogenezei și posibil în memoria pe termen lung. Acestea provoacă boli numai dacă sunt pliate greșit. Plierea greșită se perpetuează: proteinele pliate greșit servesc drept șablon, iar „greșeala” se transmite „contagios”, ducând la creșterea numărului de proteine pliate greșit și, în cele din urmă, la agregate insolubile (fibre amiloide). Acest fenomen îl putem observa uneori când ne uităm la cristale, unde o structură greșită continuă să se formeze (proteinele *prion* sănătoase, PrP (sau PrPc celulară) au structuri diferite de cele ale proteinelor *prion scrapie* care cauzează boala (PrPsc); ele conțin mai multe foițe beta și mai puține spire alfa, în timp ce raportul invers se găsește la *prionii* sănătoși). Boala a fost observată pentru prima dată la oi, iar „scrapie” descrie boala mentală, al cărei simptom este răzuirea continuă.

Aproximativ 180 000 de bovine au contractat ESB în decurs de 30 de ani, iar 220 de persoane au murit din această cauză. Numărul a fost mult mai mic decât se anticipase inițial, astfel încât Uniunea Europeană a decis să nu mai solicite inspecții ale cărnii de vită.

Prionii pot fi un model pentru alte boli ale creierului, precum boala Huntington sau boala Alzheimer (AD). Există gene implicate - dar și agenți infecțioși, posibil *prioni*: conform unor rapoarte de caz recente, transmiterea AD ar fi putut fi cauzată de extracte de hormon de creștere din creiere umane administrate copiilor care nu creșteau corespunzător. Extractul ar fi putut fi contaminat cu „proteine AD” - aproape ca *kuru*! Acestea sunt, de asemenea, desemnate drept

„prioni abeta”. Procedurile de sterilizare și chiar transfuziile de sânge vor fi acum inspectate pentru a depista astfel de contaminanți.

Pe scurt, există două extreme: proteine fără acizi nucleici (**prionii**) și acizi nucleici fără proteine (**viroizii**) - și PDV doar cu gene străine. Toate acestea sunt variații ale unei teme pentru termenul „viruși”: diferitele combinații care se află între cele două extreme, „numai proteine” și „numai acizi nucleici”, sunt virușii de manual.

6. Virușii - „giganți” ca celule

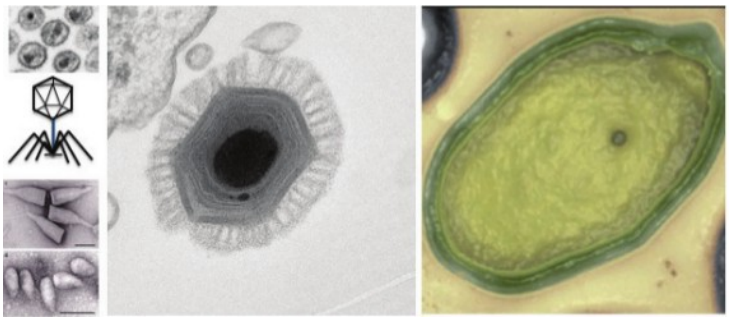
Virusuri uriașe de alge și interdicție de înot în Marea Baltică

Marea Baltică a fost în sfârșit suficient de caldă pentru o baie, care s-a încheiat însă cu un șoc: apa era tulbure cât vedeai cu ochii, iar lebedele amestecau noroi maro și murdar. Un panou ne avertiza că înmulțirea algelor poate ucide câinii și poate fi periculoasă pentru sănătatea oamenilor. Cauza este reprezentată de algele unicelulare, mici eucariote care fac parte din planctonul vegetal (fitoplancton). Acestea pot fi verzi, brune sau roșii și pot crește exploziv în timpul perioadelor fierbinți de vară, fiind bine hrănite de deversările de pe câmpurile agricole suprafertilizate care mărginesc țărmul. Algele formează straturi solide care ajung aproape până la orizont. Mareele roșii sunt menționate în Biblie ca fiind un semn al Apocalipsei - ar fi putut fi vorba de o floare de alge în loc de sânge? Nu este imposibil!

Un ocean contaminat - cum se curăță? Prin viruși! Lipsa de nutrienți și de spațiu activează virușii din interiorul microorganismelor, iar aceștia distrug apoi floarea de alge, lăsând în urmă suspensii albe lăptoase în mare, care pot fi observate chiar și din nave spațiale. Resturile servesc apoi drept hrană reciclată pentru pești sau creveți.

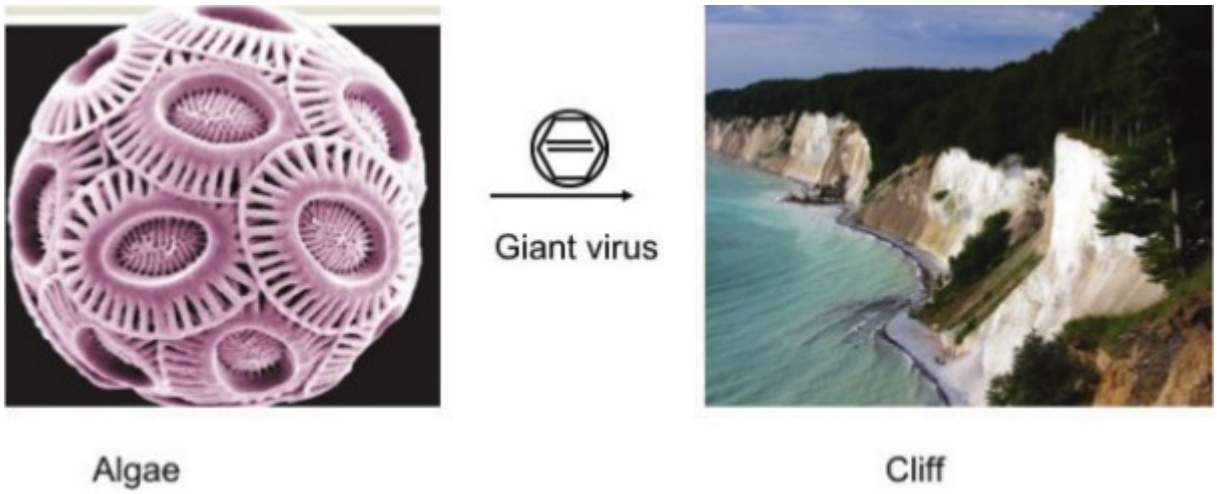
Virușii discutați aici sunt acum viruși „adevărați”, nu fagi, virușii bacteriilor descriși mai sus. Acestea sunt de fapt foarte mari, viruși giganți. Algele și virușii au evoluat împreună timp de 3 miliarde de ani și se crede că acești viruși aparțin, ca evoluție, celor mai vechi pe care le cunoaștem. Unele dintre alge arată foarte frumos, cum ar fi „algele de cretă” (haptofite)t cu micile lor decorațiuni lamelare în formă de guler. Acestea sunt comune și populează oceanele de la Arctica la ecuator. Ele preferă suprafața ușoară a apei. Numele lor este *Emiliania huxleyi* sau, pe scurt, *E. hux*, iar virusurile lor sunt desemnate în consecință **EhV** sau un virus specific EhV-86. Este un virus gigant cu ADN dublu-catenar de 400.000 de perechi de baze corespunzând la aproximativ 500 de gene. (Pentru comparație, un retrovirus are 10 000 de perechi de baze și aproximativ 10 gene, iar fagii descriși în capitolul anterior au dimensiuni cuprinse între 5 000 și 150 000 de perechi de baze). Algele au fost denumite după Cesare Emiliani și Thomas Huxley. Acest virus algic, cu un genom ADN, se mai numește și *Coccolithovirus*, cuvântul grecesc *lithos* însemnând *piatră*, referindu-se la

algele pietroase de calciu sau „cretă” care sunt gazdele sale. Acestea au fost selectate drept „algele anului” în 2009 datorită influenței lor asupra climei și mediului. Acestea sunt doar unul din cele 300 de tipuri, în total fiind cunoscute 40 000 de alge diferite. Carbonatul de calciu este produs de virusul **EhV** după distrugerea algelor și se acumulează pe fundul mării. Dacă acest lucru continuă timp de milioane de ani și nivelul apei scade, se poate vedea coasta albă și strălucitoare a Doverului sau stâncile Insulei Rugia din Marea Baltică. Nimeni care vede această frumoasă coastă nu se va gândi imediat la viruși. Nici Caspar David Friedrich, atunci când a pictat faimosul său tablou al Insulei Rugia.



Diferiți viruși: HIV (stânga sus), fag (schematic), două virusuri de archaea (stânga) și două virusuri gigant (mijloc și dreapta) (nu la scară).

În urmă cu câțiva ani, a trebuit să evaluez o cerere de finanțare substanțială: scopul era de a „fertiliza” oceanul cu fier, astfel încât creșterea algelor să crească, iar algele să elimine gazul cu efect de seră C02 din atmosferă, scufundându-se cu acesta pe fundul mării. Fertilizarea unui ocean întreg? Mi s-a părut riscant, când mi-am amintit de Marea Baltică, care s-a dezechilibrat doar din cauza unei veri fierbinți. A fost un avertisment. Încă nu știm suficient. Toți criticii au fost sceptici, dar ideea continuă să revină.



Virușii ca „arhitecți”: Algele calcaroase (Emiliania huxleyi) distruse de un virus gigant au construit faleza de cretă albă.

Liza algelor de către viruși generează, de asemenea, mirosul tipic al oceanelor, sulfura de dimetil chimică, pe care, din nou, nimeni nu o atribuie acțiunii virușilor - nici măcar un virusolog nu ar face-o. Mirosul nu este cauzat doar de fagi, care reglează emisia de C02, ci și de virusurile algelor, care influențează formarea norilor, a ploii și a stâncilor de cretă. Și nimeni nu s-ar gândi la viruși - cu atât mai puțin la viruși giganți - în timp ce urmărește prognoza meteo la știrile de seară.
Virușii giganți, cum ar fi virușii *Chlorella*, preferă algele verzi, în timp ce **EhV** preferă algele cretă. Algele *Chlorella* și-au primit numele de la clorofilă. Într-adevăr, aceste alge l-au ajutat pe Melvin Calvin, ale cărui cursuri le-am urmat la UC Berkeley, să rezolve chimia fotosintezei. Am găsit, spre surprinderea noastră, primul virus *Chlorella* în intestinele umane - și am întrebat persoana

respectivă dacă îi place mâncarea *sushi* - nu. (Citiți mai multe despre acest lucru în cap. 10, transferul de fecale).

O disciplină de specialitate care să se ocupe de virusologia oceanelor nu a existat până recent. Fagii din oceane, cu abundența lor astronomică, au fost o surpriză, dar virusurile gigantice nu sunt încă recunoscute pe scară largă. Motivul este simplu: nu se găsesc ușor și nu provoacă boli. Filtrarea este procedura standard pentru a separa virușii de celulele lor gazdă. Cu toate acestea, virușii gigantici au dimensiuni similare bacteriilor, astfel încât nu pot fi separați cu filtrele; de fapt, până în prezent, nimeni nu știe câți dintre ei există. Unii cercetători cred că sunt foarte multe! În plus, organismele unicelulare precum algele nici măcar nu erau considerate gazde ale virușilor. Acest lucru pare incredibil dacă ne amintim că numărul de viruși din alge care apar nou în fiecare zi poate ajunge la 10^{19}. În comparație, fagii se replică la o rată de 10^{24} de infecții noi pe secundă, iar 10^{30} dintre aceștia populează planeta noastră. Numărul total de viruși este estimat între 10^{31} și 10^{33} - iar numărul de stele 10^{25}, iar grăunțele de nisip pot ajunge la 10^{28}, în funcție de modul în care se face calculul!

Acești viruși gigantici conțin ADN dublu catenar, cu aproximativ 500 000 de perechi de baze și corespunzând la aproximativ 500 de gene, conținute în structuri proteice icosaedrice. Această dimensiune este similară cu cea a bacteriilor parazite, care sunt bacterii mici. Bacteriile „adevărate”, cum ar fi bine-cunoscuta tulpină de laborator *E. coli*, sunt mai mari și cuprind aproximativ 5 milioane de perechi de baze. Dacă se compară acești viruși gigantici cu bacteriile mici, aceștia au dimensiuni similare. ADN-ul virușilor gigantici poate conține chiar și regiuni sensibile rare de ADN monocatenar, iar unele părți ale acestuia sunt necodificatoare, adică nu conțin informații genetice pentru proteine. Acest lucru le face să pară foarte vechi; într-adevăr, originea lor, estimată de descoperitorii lor, datează de 2,7 miliarde de ani.

Dacă comparăm numărul de gene virale gigantice cu cele ale HIV sau ale gripei, care au aproximativ 10 gene fiecare, acestea sunt într-adevăr gigantice. Acești viruși giganți sunt chiar mici printre cei mai noi viruși giganți. Cele mai mari virusuri noi sunt de fapt de cinci ori mai mari și conțin până la 2 500 de gene. Majoritatea genelor virușilor giganți nu pot fi găsite în baza de date a genelor și aproape că nu au legătură între ele. Din două virusuri de alge diferite cu câte 1000 de gene fiecare, doar 14 sunt înrudite. Dintr-o dată, a apărut o lume cu totul nouă a genelor, căilor și metabolismului - a vieții!

Virusurile amibelor pot gâdila

Noile virusuri gigantice sunt adesea virusuri ale amibelor, o gazdă la care nu mulți virusologi s-au gândit vreodată. Și acești viruși au fost complet necunoscuți până de curând. În timpul căutării periculoasei bacterii *Legionella*, care acoperă interiorul țevilor de apă sub formă de biofilme și se poate răspândi în timpul dușului, cauzând boala *legionarilor*, virusurile gigant au fost trecute cu vederea de cercetători. În 2003, primii viruși giganți au fost descriși ca viruși ai amoebei. În 2008, alți viruși giganți au fost descoperiți în apa turnurilor de răcire din Paris. Acestea au fost desemnate drept „mimivirusuri”, ceea ce înseamnă că imită bacteriile, care sunt similare ca mărime! Aceasta nu trebuie confundată cu „mini” - mic - pentru că sunt chiar opusul. Ele sunt atât de gigantice încât au fost trecute cu vederea ca viruși. Virușii giganți sunt „aproape-bacterii”. Se pot vedea la microscopul optic, ceea ce era imposibil pentru virusurile cunoscute până atunci. Virusologii folosesc microscoape electronice, nu microscoape optice. Dar nu au fost acceptate nici ca bacterii, deoarece nu puteau fi detectate în testele standard pentru bacterii, testele cu plăci. În plus, erau atât de grele încât se scufundau pe fundul vaselor de cultură din laborator și, prin urmare, nu erau detectate de bacteriologi.

La scurt timp după descoperirea mimivirusurilor au fost descoperite alte două virusuri gigantice, *Megavirus chilensis* lângă plaja din Chile și *Marseillevirus* lângă Marsilia. Toate cele trei virusuri gigantice sunt cunoscute sub denumirea de virusuri de amibe, având fiecare un milion de perechi de baze, corespunzând la aproximativ 1000 de proteine. În prezent, noi virusuri gigantice sunt detectate în mod constant. Materialul genetic al virușilor *amoebae* este compus în mod diferit

față de toate celelalte genomuri cunoscute pe Pământ. Acestea sunt atât de mari, cu mai multe gene decât pare necesar: gena celei mai mici specii vii, bacteria micoplasmă (*Mycoplasma genitalium*) cuprinde aproximativ 500 000 de perechi de baze, corespunzând la aproximativ 482 de gene sau proteine. Craig Venter a generat la începutul anului 2016 prima celulă complet sintetică cu creștere independentă cu 473 de gene, depășind un efort anterior de minimalizare cu o entitate sintetică „aproape vie" (cuprinzând 382 de gene) care a trebuit să fie plasată într-o celulă goală care a furnizat un anumit ajutor. Multe bacterii precum *Chlamydia* sau *Rickettsia*, sau oricare dintre alte 150 de tipuri de bacterii, sunt mai mici decât virusurile amibelor. Acest lucru este valabil în special pentru bacteriile care au devenit paraziți intracelulari, primind sprijin de la celula gazdă infectată. Cea mai mică bacterie este *Hodgkinia cicadicola*, cu 145.000 de perechi de baze, care codifică 169 de proteine. Se ascunde în interiorul insectelor și este protejată acolo de exterior. Astfel de paraziți sunt degenerate și specializate și deleagă funcții celulei gazdă. Mitocondriile sunt foste bacterii, la fel și cloroplastele din celulele vegetale. Ambii simbionți sunt foarte specializați și dependenți de celula gazdă. Dimensiunile lor sunt depășite cu mult de virușii gigantici.

Virusurile din *amoebe* preiau gene noi prin transfer orizontal sau lateral de gene din partea interioară a *amoebei*, unde există și alte bacterii și alți viruși, care sunt în mod normal asimilați și digerați ca hrană de către *amoebe*. Există ADN care plutește în jur, pe care virușii giganți îl încorporează - prin transfer orizontal de gene. ADN-ul provenit de la *amoebe* este disprețuit, probabil pentru că ADN-ul *amoebei* este localizat în interiorul nucleului și, prin urmare, este dificil de accesat din citoplasmă. Din genomul total al virusurilor *amoebae*, 56% provine de la eucariote, 29% de la bacterii, 1% de la *archaea*, 5% de la alți viruși și aproximativ 10% sunt necunoscute. O astfel de complexitate genetică trebuie să indice că virușii giganți interacționează cu mediul lor și fac schimburi genetice semnificative. Unul dintre virușii giganți, *Marseillevirus*, conține un genom ARN-ADN chimeric, ceea ce este foarte neobișnuit. A rămas cumva ceva ARN pe calea evoluției sale către ADN? Acești viruși nu se încadrează în peisajul viral.

Și mai există o mare surpriză. Virușii giganți adăpostesc gene pentru sinteza proteinelor. Sinteza proteinelor este considerată cel mai important privilegiu al celulelor vii și este complet inaccesibilă pentru viruși. Astfel, descoperirea virușilor giganți care conțin componente ale aparatului de sinteză a proteinelor a dat complet peste cap concepția noastră anterioară despre lumea virușilor. Acești viruși nu posedă întregul set de componente pentru sinteza proteinelor, deci sunt defectuoși în această privință, dar chiar și așa...! S-au oprit din evoluție la jumătatea drumului evolutiv spre a deveni entități vii precum bacteriile?

Unele mimivirusuri au coroane de păr mari și ciudate, care sunt folosite pentru a contacta celulele gazdă. Acestea sunt de fapt fibrile, compuse din colagen, și fac virușii gigantici să pară și mai mari. Aceste extensii lungi mă fac să mă întreb la ce servesc, absorbție sau protecție? Mimivirusurile au structuri nucleare icosaedrice, nucleul măsurând 500 nm în diametru, iar stratul de păr are o grosime de aproximativ 140 nm. Părul de colagen seamănă cu țesutul nostru conjunctiv (și nu cu părul nostru). Virusurile au aproape întotdeauna molecule de suprafață, utilizate pentru recunoașterea, legarea și intrarea în celulele gazdă specifice pentru care sunt specializate. Cu ajutorul acestor fire de păr, virușii giganți par să își gâdile celulele gazdă pentru a intra. Receptorii complecși nu par să fi existat în această lume timpurie. Intrarea prin atingere sau gâdilare este o variantă simplă în comparație cu locurile de andocare extrem de specializate pe care HIV le utilizează pentru a intra în limfocite, imitând liganzii receptorilor celulelor gazdă. Gigavirusurile par să se descurce cu simpla iritare mecanică a celulelor gazdă.

Aproape ca și cum ar fi fost comandat special pentru Cupa Mondială de Fotbal din Brazilia din 2014, un nou virus gigant a fost descoperit în pădurile tropicale ale fluviului Amazon. Acesta se numește „Samba" și are, de asemenea, părul lung ieșind în afară. În curând, toți acești mulți viruși noi nu vor mai părea surprinzători. Celulele gazdă, *amoebele*, par străvechi. Ele înghit alți viruși, în special virușii herpetici, dintr-o înghițitură și îi digeră. Pentru a se proteja împotriva sorții de a fi digerați, virușii gigantici sunt mai vicleni decât *amoebele*, deoarece pot fi absorbiți fără a fi mâncați. Ei se deplasează în vacuolele din interiorul *amoebei* și fuzionează cu membranele vacuolelor; acestea reprezintă un loc sigur în care virușii giganți se pot chiar replica. Replicarea are loc într-un

compartiment separat, o fabrică separată, independentă de nucleul celular, denumită „fabrică de viruși”. Aceasta devine mai mare, cu cât sunt produși mai mulți viruși. Progenia virală este apoi secretată din fabrică.

În laborator, a fost realizat un experiment în care virușii giganți au fost trecuți de la o generație de *amibe* la alta, în total de 150 de ori. După aceste treceri, virușii giganți se schimbaseră semnificativ - pierduseră unele gene. Printre acestea se număra pierderea „părului”, care se pare că nu era esențial în acest cadru, prin evoluție reductivă. Pierderea genelor în vasul de cultură a fost izbitoare în cazul virușilor giganți. Aceasta va fi discutată în ultimul capitol, deoarece pierderea de gene poate reveni aproape la zero - dacă un mediu bogat furnizează nevoile minime. Evoluția în vase de reacție a devenit un experiment preferat în laborator, deși necesită multă răbdare.

Sputnik - virusul virușilor

Virușii uriași mai au o surpriză în mânecă. Da, ei chiar există: viruși ai virușilor. Virușii giganți pot fi infectați de alți viruși și pot permite replicarea lor ca adevărate gazde. Această proprietate a virușilor giganți este cu totul excepțională. În mod normal, virușii infectează celulele - dar acești viruși giganți pot fi ca niște celule pentru alți viruși, ceea ce, la rândul său, la urma urmei, plasează virușii giganți aproape de celule. Virușii giganți sunt „aproape celule”. Virușii virușilor sunt denumiți „virofagi”, prin analogie cu bacteriofagii, virușii bacteriilor. Acestea au nume precum Sputnik sau Ma-virophage. Acesta din urmă este derivat din virusurile Maverick, care sunt viruși informatici distructivi. Sputnik și Ma-virophage depind pentru replicarea lor de virușii giganți. Acestea au aproximativ 20 de gene și, prin urmare, aproximativ 20 000 de perechi de baze și numai trei dintre aceste gene sunt derivate din virusul gigant. Sunt viruși destul de mici, dar puternici, deoarece își pot distruge gazdele virale. Sputnik ocupă fabrica virală, unde se înmulțesc virușii giganți, și își reproduce propria descendență pe cheltuiala virusului gigant; el chiar deturnează proteinele gazdei pentru propria sa reproducere. În acest proces, mimivirusurile de 20 de ori mai mari mor. Așadar, aici, un virus este gazda altui virus, dar nu în sensul de a fi un virus ajutător, ci mai degrabă ca un virus informatic mortal. Acest lucru este destul de neobișnuit.

Ma-virofagul infectează un alt tip de virus gigant, numit virusul *Cafeteria roenbergensis* (CroV). Ce nume: este numit după o cafenea din orașul danez Ronbjerg, nu după numele descoperitorului - mi-a fost greu să aflu acest lucru până când l-am sunat pe Matthias Fischer, un specialist în virofage din Heidelberg. Cro este un microflagelat, un organism unicelular, eucariot, care digeră bacterii, nu ca *amoebele* sau algele. Este răspândit în oceane, pe care le penetrează la mare adâncime. Virusul său gigantic CroV provoacă distrugerea flagelatelor și reglează astfel densitatea populației acestora. Virusul cafenelei, CroV, este investigat de Matthias Fischer, care este unul dintre foștii studenți ai lui Curtis Suttle. Acesta este compus din 730 000 de perechi de baze și 544 de produse genice provenite de la bacterii, eucariote și fagi ADN. Eșantioane din acest virus care conține virusul virofag **Ma** au fost colectate de Craig Venter (nu lângă o cafenea). După ce a terminat secvențierea genomului uman, Venter și-a combinat cercetările cu hobby-ul navigației. Trecând prin Marea Sargaselor (în Oceanul Atlantic), el a prelevat probe de apă și le-a distribuit altor cercetători pentru secvențiere și analize suplimentare. Acest lucru îi ține acum ocupați pe numeroși bioinformaticieni. Se deschide o întreagă lume genomică, în care majoritatea genelor și căilor metabolice sunt necunoscute. Viața de pe fundul oceanelor este foarte diferită de a noastră! Ce surpriză.

Virusul **Ma** se replică la fel ca celălalt virus Sputnik în fabrica de viruși din interiorul *amoebei*, fără a fi digerat. Doar patru din cele douăzeci de gene ale virusului **Ma** sunt identice cu cele ale virusului Sputnik. Virofagul **Ma** poartă chiar și gene retrovirale, cum ar fi integrasa virală. (Retroviruşii influenţează totul! **Ma** se comportă, de asemenea, ca un retrovirus, deoarece își integrează ADN-ul în ADN-ul flagelatului, ceea ce îi garantează moștenirea). Pe de altă parte, **Ma** folosește virusul cafelei CroV ca gazdă pentru replicare și apoi îl ucide - așa cum fac fagii. Astfel, **Ma** este un retrovirus pentru o gazdă și un fag pentru cealaltă gazdă, o jumătate și jumătate. Acest lucru este unic, din câte știu eu. Prin urmare, este un intermediar interesant al evoluției. Exploatează

și ajută cu comportamentul social și cu cel egoist, ambele în același timp. Nimeni nu și-ar fi putut imagina o relație atât de complexă - un *ménage à trois* !

Organizația „Global Ocean Survey” caută alte virofage. Poate că virofagele nu sunt nici măcar rare. Între timp, au fost identificate o jumătate de duzină. Unul se numește *Antarctic Organic Lake Virophage*, altul *Phaeocystis Globosa Virophage*. Noul mimivirus Samba adăpostește, de asemenea, un virofag. Acum putem începe să comparăm compoziția genelor virofagilor - acestea sunt puzzle-uri din zeci de surse de gene.

Nu încercați să vă amintiți toate acestea, stimate cititor. Este suficient dacă sunteți surprins!

Viruși de dimensiuni XXL - pandoravirusurile

Chiar înainte de a fi finalizat, capitolul „virusuri gigantice” a trebuit să fie extins.

De acum înainte, trebuie să se adauge data descoperirilor - atât de rapid este progresul în detectarea noilor viruși. Începând cu 20 iulie 2013, au fost raportate două noi virusuri. Până în prezent, cel mai mare virus gigant a fost *Megavirus chilensis* din *amoebe*, cu 1,25 milioane de perechi de baze. Să-i spunem XL. Acum există două noi virusuri și mai mari, aproape de două ori mai mari, virusurile super-gigant „XXL”. ADN-ul lor se ridică la 1,91 și 2,47 milioane de perechi de baze, corespunzând la 1900 și 2500 de gene sau produse genice. Jean-Michel Claverie, din Marsilia, a izolat noii viruși: mai întâi pandoravirusul *P salinus*, cel mai mare dintre toți virușii giganți cunoscuți, în sedimentele de pe coasta Chile, iar celălalt, *P dulcis*, într-un iaz din Australia. Claverie a fost invitat să țină o conferință la o universitate din Australia, unde a mers până la un iaz din campus, luând cu el un recipient de sticlă pe care l-a umplut cu apă și noroi din iaz. Acasă a izolat *P dulcis*! Descoperirea simultană a doi astfel de viruși uriași în două regiuni atât de îndepărtate ale globului nu poate fi o coincidență norocoasă. Aceste virusuri trebuie să fie comune.

Virușii recent descoperiți au aspectul unei amfore grecești sau - puțin mai puțin poetic - au formă de ou, nu de icosaedru. Cu toate acestea, nu forma lor a dat naștere numelor, ci mai degrabă optimismul descoperitorului lor că vor exista mai mulți astfel de viruși descriși de legenda greacă a cutiei Pandorei - plină de viruși, o presupunere optimistă. Poate că vor exista chiar și viruși XXXL *jumbo*. Nu se știe niciodată! Poate că se vor deosebi cu greu de bacterii și pot fi totuși trecute cu vederea!

Cei doi viruși nu au nicio legătură genetică între ei sau cu alți viruși giganți. Se replică în *amoebe* la fel ca alți viruși giganți, dar fără semne ale icosaedrului favorabil din punct de vedere energetic, fără membrană, fără fire de păr - de fapt, entități mai degrabă goale. Dintre cele 2370 de gene ale lui *P salinus*, doar 101 seamănă cu genele eucariotelor, 43 cu cele ale bacteriilor și 42 cu cele ale altor viruși. Aproape incredibil, 93% din genele lor sunt necunoscute. Cu toate acestea, forma celor două este înrudită, ele arată similar, din Chile până în Australia. Forma lor de ou este compusă din mai multe straturi. De asemenea, ADN-ul lor este neobișnuit, fiind alcătuit din șiruri duble liniare cu capete repetitive. La fel ca alți viruși gigantici, au proprietăți cvasi-celulare: gene pentru replicarea ADN-ului, precum și pentru sinteza proteinelor, care în mod normal este asigurată de celula gazdă și lipsește la viruși. Descoperitorii Didier Raoult și Jean-Michel Claverie au propus existența unui nou domeniu al vieții, un al patrulea regn pe lângă cele trei existente, bacteriile, *arhaea* (ambele procariote) și eucariotele, și noile gigavirusuri (sau, pe scurt, „*girusuri*”). Acest lucru sună ca un bun argument de vânzare pentru o clasificare superioară a descoperirii lor. Ei merg chiar mai departe, plasând *girusurile* sub cele trei domenii, la baza arborelui vieții ca strămoș comun. Ei estimează vârsta acestor virusuri la 2,7 miliarde de ani.

Viruși localizați la rădăcinile arborelui vieții? Mai mulți oameni gândesc așa. Dar eu cred mai mult în *viroizi*, pentru că virușii uriași sunt mult prea mari pentru un început! Virusurile gigantice ar putea fi bacterii incomplete, care sunt pe cale să devină bacterii adevărate și s-au oprit într-o ramură laterală și au rămas neterminate; sau, alternativ, ar putea fi bacterii degenerate care și-au pierdut o parte din gene și independența. În orice caz, virușii giganți sunt forme de tranziție între viruși și celule. Granița nu este netă, ci continuă. Cum a decurs evoluția - virușii mici au devenit mai mari și au progresat spre a deveni viruși giganți și, mai departe, celule? Acest lucru corespunde

unei creşteri în complexitate şi dimensiune. Sau este mai probabil contrariul - pierderea genelor şi regresia au condus la apariţia virusilor? Cred că prima variantă este mai probabilă, iar acest lucru va fi discutat mai târziu. Am scris un articol ştiinţific despre viruşi ca motoare ale evoluţiei, ca furnizori de gene şi inventatori, participând în timpul dezvoltării timpurii a vieţii, ajutând la construirea tuturor genomurilor şi chiar a apărării antivirale - pe care am încercat să îl public în reviste internaţionale cu evaluare colegială. Acest lucru a condus la un număr neobişnuit de referenţi anonimi. Un editor mi-a trimis articolul pentru a fi evaluat de 7 referenţi, lucru pe care nu l-am mai experimentat până atunci. Răspunsurile au variat de la entuziasm („un punct de vedere nou", „concept neaşteptat", „inovator", „vizionar") - până la punerea la îndoială a cunoştinţelor şi pregătirii mele în domeniul virologiei de bază. Se poate citi articolul „*Ce ne spun virusii contemporani despre evoluţie*" şi o versiune scurtă: „*Sunt virusii cei mai vechi strămoşi ai noştri?*" Alţii au mai scris despre acest subiect, cum ar fi Luis P. Villarreal (care a scris o carte întreagă pe această temă) şi, mai recent, Eugene Koonin, biomatematician la Institutul Naţional de Sănătate (NIH), şi Carl Zimmer, un jurnalist care a scris o mică broşură despre „*Mamifere făcute de viruşi*". Koonin a folosit abrevierea LUCAV, făcând aluzie la LUCA, ultimul strămoş comun universal, şi a adăugat V pentru viruşi, gândindu-se la o lume virală antică sau „viro-sferă". LUCA trebuie să fie foarte complicată, deoarece prima celulă artificială „minimă" produsă de Craig Venter are nevoie de 473 de gene pentru viaţă. Dar viaţa trebuie să fi început într-un mod mult mai simplu. Virusurile inovatoare au încercat multe alternative şi nu au pornit de la un singur virus, ci de la un amestec - sau cvasi-specie - de virusuri, un nor, o populaţie compusă din multe secvenţe diferite. Ei ar fi putut fi începutul. Apoi, transferul orizontal de gene a contribuit la construirea unor complexităţi superioare. Un singur „Ur-Virus" simplu, un pre- sau pro-virus, nu ar fi avut nicio şansă.

Pasiunea mea pentru virusii gigantici trebuie să fi fost contagioasă, pentru că am fost invitată în studioul unui post de radio pentru a explica cea mai nouă veste despre virusii gigantici: era vorba de *Pithovirus*, un virus prezis „XXXL", a cărui descoperire a fost anunţată la 3 martie 2014. Şi acesta a fost descoperit de Jean-Michel Claverie. *Pithos* este un cuvânt grecesc şi în antichitate însemna un *rezervor*, după cum indică autorii. Spre deosebire de pandoravirusuri, pitho-virusurile nu arată ca nişte amfore, ci au, ca şi mimivirusurile, o structură icosahedrală care conţine ADN circular şi o haină, expunând surprinzătoarele „fire de păr". (Pithovirusurile sunt de trei ori mai mari decât cele două pandoravirusuri, dar adăpostesc doar o cincime din numărul de gene, „doar«» 596 în total. Virusul este un fel de combinaţie de mimivirusuri şi pandoravirusuri. De asemenea, se replică în *amoebe*, dar de data aceasta în interiorul nucleului). Aceasta este doar o altă variantă. Din nou, pithovirusurile au caracteristici ale celulelor bacteriene vii, pot transcrie ADN în ARN şi conţin unele gene pentru sinteza proteinelor. Sunt într-adevăr viruşi sau bacterii? Nu numai recenzenţii, ci şi cititorii au vrut să ştie. Aceasta este o întrebare importantă la graniţa dintre viruşi şi celule bacteriene. Numai bacteriile se pot diviza şi replica (se pot duplica), în timp ce virusii sunt incapabili să se împartă în două jumătăţi şi să crească. Caracteristic virusurilor este ciclul lor de viaţă: în 20 de ore se replică astfel încât *amoebele* explodează şi eliberează mii de virusuri dintr-o lovitură. Aceasta corespunde unei replicări virale clasice, aşa cum este ea cunoscută astăzi. (Eu personal cred că la început virusii erau viroizi şi nu aveau nevoie de o celulă; este nevoie de energie, dar aceasta ar fi putut fi iniţial energie termică sau chimică - şi atunci şi-ar fi putut dubla ARN-ul lângă fumătorii negri din adâncul oceanului, aşa cum este descris de mai multe ori în această carte)!

Pithovirusurile au o specialitate. Aceşti viruşi gigantici au fost recuperaţi din permafrostul din Siberia şi, prin urmare, sunt denumiţi *Pithovirus sibericum*. Au fost găsite în vârfurile goale ale burghielor de prelevare a probelor de gheaţă. Cu ajutorul metodei radiocarbonului a fost posibilă calcularea vârstei lor: 30.000 de ani. În acea perioadă, omul de Neanderthal umbla pe aici. Cel mai incredibil lucru este că, după această lungă perioadă de depozitare la congelator, virusii sunt încă biologic activi, ceea ce înseamnă că pot infecta amoebe în laborator şi se pot replica. Orice virusolog stochează virusii într-un congelator, chiar şi pentru treizeci de ani - acesta este modul normal de păstrare a acestora, iar aceştia îşi păstrează infectivitatea, în special virusurile ADN. Cu toate acestea, 30 000 de ani de permafrost este o durată greu de imaginat. Poate că şi revista *Science* a avut unele îndoieli şi nu a crezut în conservarea atât de îndelungată în permafrost, deoarece a

respins lucrarea privind pithovirusurile. Claverie și colegii săi au efectuat forajul orizontal, nu în adâncuri. Poate garanta acest lucru 30.000 de ani de permafrost? În cazul acestor virusuri, nimic nu a trebuit să fie reparat sau mutat în laborator. Acelaşi lucru s-a întâmplat şi în cazul virusurilor gripale vechi de 100 de ani ale unui soldat care fusese îngropat în permafrost încă din Primul Război Mondial şi de la care virusul a fost recent izolat şi reactivat. Cu toate acestea, genomul gripei este format din ARN, care este mai labil decât ADN-ul.

Izolarea pithovirusului a stârnit unele îngrijorări: ce altceva ar fi putut fi îngropat acolo atât de mult timp? Autorii sunt atenți și definesc virusul lor drept un „indicator de siguranță” pentru alți viruși, potențial mai periculoși - un fel de fosilă index. Până în prezent, nu a existat niciun indiciu că vreo boală ar fi cauzată de virusurile gigantice, iar acestea sunt considerate sigure. Cu toate acestea, autorii au evidențiat - spre șocul tuturor cititorilor - *poxvirusurile*. Acestea au fost considerate dispărute, dar sunt oarecum asemănătoare celor mai noi viruși giganți. Poxvirusurile nu fuseseră incluse anterior în familia „virusurilor gigantice”, însă genomurile lor mari de ADN liniar, structura lor icosaedrică și modul lor de replicare în interiorul nucleului celular le fac potențiali membri ai acestei categorii. Ar putea, de asemenea, să fi hibernat în permafrostul din Siberia timp de 30 000 de ani și ar putea fi reactivate? Există și alți viruși similari? Poate unele pe care nu le cunoaștem mai mult sau nu încă? Asta ar fi înspăimântător. (Unele alte virusuri rare, precum *Asco, Irido, Phycodna* sau *Asfoviruses* nu sunt prea îndepărtate de *poxvirusuri* sau *gigavirusuri*).

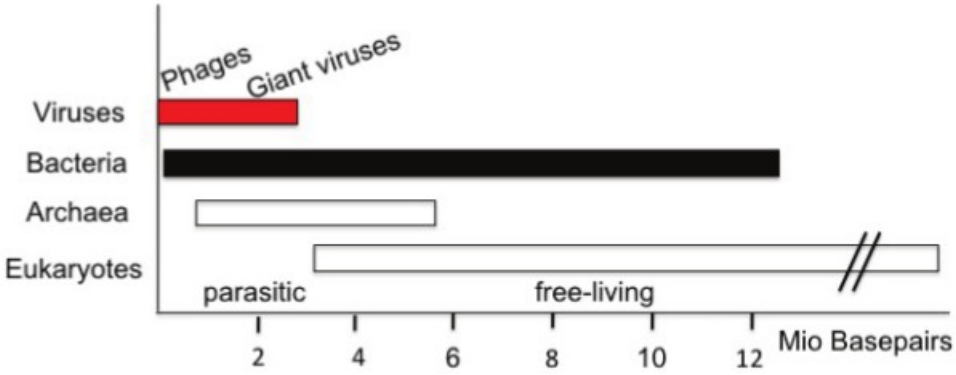
Cel mai mare *poxvirus* este virusul *Canarypox* și este utilizat pe scară largă în terapia genică ca tulpină de vaccin. Acesta are aproximativ 300 000 de perechi de baze și aproximativ 300 de proteine.

Descoperirea a trei virusuri gigantice atât de diferite la câteva luni distanță unul de celălalt, în trei locuri atât de îndepărtate precum Australia, California și Siberia, nu poate fi un simplu accident. Aceşti viruși trebuie să fie mult mai larg răspândiți și destul de comuni. Astfel, a început o nouă eră în cercetarea virușilor.

Vânătoarea continuă, în plină desfășurare - în toamna anului 2015, efectele încălzirii globale au scos la iveală un alt nou virus izolat vechi de 30 000 de ani, *Mollivirus sibericum*, cu aproximativ 500 de gene - această poveste a descoperirilor va continua!

Două recorduri mondiale Guinness: cei mai mari viruși în cele mai mari celule

Amoebele au atras brusc atenția ca gazde ale unor viruși gigantici. Mulți dintre noi nu le cunoscuseră până atunci. Sunt eucariote uriașe, unicelulare, de multe tipuri diferite. Habitatele lor preferate sunt apa dulce, râurile, solurile umede și mușchiul. Lipsite de o structură reală, ele se deplasează cu ajutorul pseudopodiilor și se reproduc prin diviziune celulară. Genomurile lor sunt gigantice, un tip, *Amoeba dubia*, cuprinde cel mai mare genom cunoscut pe planeta noastră, cu 700 de miliarde de perechi de baze. Aceasta nu este o eroare de dactilografiere! Este de aproximativ 200 de ori mai mare decât genomul nostru. A doua în ierarhia genomurilor gigantice este planta *Paris japónica*, cu 150 de miliarde de baze - iar noi avem doar 3,2 miliarde de baze.



Dimensiunea genomului: virușii giganți sunt mai mari decât multe bacterii parazite.

Alte *amoebe* cuprind aproximativ 290 de miliarde de perechi de baze - de „numai” 100 de ori mai mari decât ale noastre. Cele mai mari celule găzduiesc și cei mai mari viruși, virușii giganți. Cum se ajunge la acest dublu superlativ? Nici măcar o singură genă a virușilor giganți nu provine din genomul *amoebei*, ci doar din fondul genetic bogat din interiorul *amoebei*, prin transfer lateral de gene, gene provenite de la alte microorganisme, care sunt digerate în interiorul *amoebei*. Există o mulțime de „hrană” pentru ca virusurile să devină giganți. Genomurile *amibelor* conțin numeroase duplicări de gene, pseudogene, care nu par a fi utilizate. Din acest punct de vedere, *amoebele* seamănă cu unele plante precum porumbul, grâul, bananele sau lalelele, care au, de asemenea, genomuri gigantice, cu numeroase duplicări de gene, și care pot arunca ușor gene fără consecințe semnificative - aproape jumătate din genele lor dintr-o dată! Acest paradox privind genomurile atât de uriașe sunt discutate ca fiind consecințe ale cultivării, dar în exemplele enumerate există deja excepții.

Amoebele înghit în mod normal virușii și îi digeră - cu excepția virușilor giganți, care se ascund într-un compartiment separat (fabricile de viruși sau nucleul). *Amoebele* sunt înrudite cu macrofagele circulante la om, fagocitele sistemului nostru imunitar - celule flexibile care migrează prin corpul nostru ca gardieni pentru a căuta agenții patogeni și a-i distruge în compartimente numite lizozomi. Acestea sunt pline cu enzime pentru degradare. Ele colectează gunoaiele din corpul nostru, cum ar fi resturile celulare, bacteriile, virușii și *arhaele* - pot înghiți chiar și particule de aur. Această din urmă capacitate este utilă pentru detectarea macrofagelor în microscoapele electronice. Varietatea lor de absorbție a „hranei” le face un vas de amestecare a tot felul de gene. Acest lucru poate explica de ce cele mai mari celule adăpostesc cei mai mari viruși. *Amoebele* sunt prezente nu numai în apa de circulație a turnurilor de răcire și a aparatelor de aer condiționat, ci și în apa potabilă din conductele noastre de apă. Majoritatea acestora sunt inofensive, cu excepția cazului în care sunt infectate cu bacterii precum *Legionella*; în acest caz, ele pot fi foarte periculoase atunci când sunt distribuite în picături mici în timpul dușului, în umidificatoarele de cameră sau în jacuzzi! Un tip de amibe, *Entamoeba histolytica*, poate provoca diaree amibiană (sau *amoebiasis*), care poate fi periculoasă și poate chiar provoca epidemii, mai ales dacă apele reziduale și apa potabilă nu sunt bine separate, cum este cazul în unele țări subdezvoltate din Africa și Asia. Tatăl meu a contractat odată *amoebiasis* în timpul unei călătorii lungi. Această boală trebuie raportată autorităților sanitare, iar cabinetul său medical era pe cale să se închidă. Chiar dacă există mai multe tipuri de *amoebe*, *Acanthamoebae* - gazdele virusurilor gigantice - nu provoacă nicio boală cunoscută.

Virușii pot vedea?

Întrebare stupidă? Virușii gigantici ai algelor și *amibelor* ne permit cu adevărat să o punem cu sens? Au ochi? De ce ar avea nevoie, pentru a putea vedea? Nimeni nu va lua în serios această întrebare! Cu toate acestea, virușii sunt într-adevăr dotați cu o genă cunoscută ca fiind necesară pentru vedere. Ei trebuie să recunoască ceva, deoarece reacționează la lumină și își determină gazda

să înoate spre lumină, chiar dacă nu au lentile și nici creier. Nu se cunoaște modul în care virusurile își dirijează celulele gazdă. Virusurile gigantice pot realiza acest lucru - virușii ADN din plancton (*Phycodnaviruses*), activându-și gazdele, algele eucariote unicelulare. Virusurile gigantice ale *amoebei* își „activează", de asemenea, gazdele. Virușii giganți adăpostesc un precursor al unui receptor al luminii, *proteo-rhodopsina*. Acesta este un așa-numit receptor cu șapte membrane, un transductor de semnal larg întâlnit, care se înfășoară prin membrane în șapte elice. Oamenii îi folosesc pentru a transmite semnale luminoase. Cu toate acestea, în cazul virușilor giganți, o mutație punctuală este prezentă în a treia elice; această mutație permite acceptarea luminii, dar împiedică transmiterea semnalelor mai departe. Acest lucru nu este o mare surpriză, deoarece, oricum, unde ar trebui să ajungă semnalele? Cuantumul de lumină activează virusul, iar virusul împinge gazda să înoate spre lumină, spre suprafața mării, unde se așteaptă hrană bogată. Acest mecanism se numește **fototaxie**. Nu este doar un avantaj pentru gazdă, ci este, de asemenea, în conformitate cu principiul viral de a genera cât mai multă progenie: cu cât gazda este mai sănătoasă, cu atât este mai bine pentru virus. Există o preferință pentru lumina verde - chiar și aceasta a fost descoperită. Este aceasta culoarea planctonului, care promite o hrană bogată? Gena este un amestec de gene înrudite; 30% din ea este similară cu genele de rodopsină bine cunoscute ale bacteriilor, protiștilor, drojdiei și altor eucariote, inclusiv ale noastre. Există „ochi" surprinzători găsiți în natură, cum ar fi unele puncte negre minuscule de pe marginea meduzelor, despre care se crede, de asemenea, că sunt precursori ai ochilor. În total, cinci tipuri de virusuri conțin precursori de rodopsină - deci astfel de virusuri nu sunt nici măcar rare. De unde provin genele „proto-ochiului"? Au fost transmise de la viruși la gazde, sau invers? Au evoluat împreună cu virușii? Nimeni nu știe.

Numeroșii ochi diferiți cunoscuți în natură au fost inventați o singură dată, potrivit lui Walter Gehring, renumit cercetător oftalmolog din Basel, Elveția, care a studiat evoluția ochilor. În 2012, el a publicat într-o revistă 50 de imagini colorate cu ochi, ca parte a unei dezbateri privind modul în care structuri atât de diverse ar putea avea o singură origine. Pentru a demonstra autonomia genelor oculare, el a pus chiar un ochi pe un picior al mușteі de fructe *Drosophila*, folosind unele trucuri moleculare de dezvoltare. Muștele chimerice arătau înspăimântător și i-au speriat pe oameni - „monștri oribili ai ingineriei genetice" și este posibil să-l fi costat Premiul Nobel. Nu auzise niciodată de ochii virusați. Aceasta a fost o surpriză pentru el și ar fi deschis o nouă temă de cercetare, după cum a spus când m-a auzit vorbind despre aceasta în timpul unui seminar la Klosters în Alpii elvețieni, organizat de Manfred Eigen. I-am dat publicația lui Eugene Koonin - și a ratat cina citind-o.

Archaea preferă fierbinte și sărat

Unele regiuni de pe planeta noastră sunt extrem de calde, extrem de întunecate, extrem de reci, extrem de sărate, extrem de acide sau extrem de bazice. Viața în astfel de condiții extreme este posibilă pentru „extremofili". Acestea pot tolera temperaturi ale apei de până la 150°C la presiune ridicată în adâncurile mărilor, acizi puternici la pH 2 sau alcalii puternici la pH 12, sau concentrații ridicate de sare în lacurile sărate. Chiar și în permafrost sau în vârfurile de foraj care prelevă probe din regiunile adânci ale solului, unde nimeni nu s-ar aștepta să existe organisme vii, se pot găsi extremofile vii. Ne-am aștepta să fie imposibil ca viața să existe în astfel de condiții. Întrebarea cu privire la granița dintre viață și moarte nu se aplică extremofilelor, așa cum s-a discutat în cazul virușilor, deoarece aceste organisme sunt într-adevăr vii: metabolizează și se reproduc într-un mod similar bacteriilor. Ele pot metaboliza în condiții complet neașteptate și pot utiliza surse de energie neobișnuite, de exemplu, preluând electroni liberi de la electrozi și folosindu-i pentru reacții redox - sună ca și cum copiii ar linge înghețată pentru a asimila zahăr. Apoi există cristalele de sare, care sunt higroscopice, atrăgând umiditatea din aer, din ceață, în regiuni ale lumii în care nu a plouat timp de 200 de milioane de ani, deșertul Atacama din America de Sud - și totuși celulele pot trăi acolo, în interiorul cristalelor de sare, în mici „incluziuni fluide", mici picături. Unele dintre aceste *arhaea* au fost reînviate după aproximativ 34 000 de ani, după cum s-a demonstrat la Muzeul American de Istorie Naturală din New York. Acest lucru a stimulat vizionarii, producătorii de film și

NASA să speculeze - sau chiar să spere - că ar putea exista viață pe Marte sau pe alte planete. Într-adevăr, în rocile marțiene au fost găsite incluziuni fluide.

Archaea nu mai sunt denumite prin denumirea lor istorică de „bacterii arheale”, ci pur și simplu *archaea*, deoarece s-au constatat prea multe diferențe între ele și bacterii. Cu toate acestea, ele au fost identificate ca un domeniu de viață separat, independent de bacterii și eucariote. În ciuda acestui fapt, ele prezintă unele asemănări cu bacteriile în ceea ce privește dimensiunea, modul de replicare și capacitatea de a găzdui viruși, folosind mecanisme de apărare antivirală similare cu cele ale bacteriilor și adăpostind transcriptaze inverse. Denumirea de *archaea* sugerează că acestea ar putea fi cea mai veche formă de viață, începutul celulelor vii. În prezent, ele sunt plasate undeva între bacterii și eucariote în arborele evolutiv și sunt înrudite cu ambele. Când Carl Woese a descoperit *arhaea* în 1977, diferențele dintre domeniile vieții nu erau atât de clar definite. Woese a ales ca referință ARN-ul ribozomilor și a descoperit diferențe de secvență, ceea ce a dus la organizarea vieții în trei domenii. Secvențele sunt specifice pentru toate tipurile de bacterii și sunt utilizate astăzi pentru identificarea a milioane de bacterii diferite, o procedură care este surprinzător de fiabilă. (ARN-ul se numește „ARN ribozomal 16/18S (sau ARNr)” la pro- și eucariote. ADN-ul corespunzător este utilizat pentru secvențierea și clasificarea tipurilor de bacterii). La începutul anului 2015, un grup danez a aplicat o analiză de secvențiere mult mai rafinată pentru *archaea* și le-a plasat mult mai aproape de eucariote în arborele vieții, nu mai jos, la bază, ci mai sus, departe de originea vieții. Ei au găsit numeroase gene asemănătoare eucariotelor, mai multe decât se anticipase. Aceste *archaea* sunt denumite *archaea Loki*, după numele unui canal hidrotermal de mare adâncime cu acest nume - Loki este și numele unui zeu scandinav. Așadar, dezbaterea cu privire la ce este mai vechi continuă.

Archaea sunt supraviețuitori remarcabil de buni. Extremofilele s-au adaptat extrem de bine la condițiile lor de viață extrem de specializate - dar sunt și surprinzător de inflexibile. Este posibil să fi avut nevoie de mult timp pentru a se adapta lent la noile condiții de viață, deoarece adesea au trebuit să dezvolte noi căi metabolice, multe dintre acestea fiind extrem de specializate și încă necunoscute. Ca urmare a stilului lor de viață inflexibil, ele nu pot fi ușor transportate sau cultivate în condiții de laborator. Astfel, în mod paradoxal, *arhaea* iubitoare de căldură mor în timpul transportului în condiții de căldură, deoarece nu pot tolera decât o mică fereastră de schimbare a temperaturii. Alte *archaea* care refuză oxigenul preferă combinația de temperaturi scăzute și oxigen în timpul depozitării; ele pot supraviețui mai mult de zece ani în camera frigorifică. Acest lucru ridică întrebarea dacă aceste condiții anormale de laborator pot conduce la rezultate greșite, care nu reflectă viața reală a acestor microorganisme. Analiza microbiomului lor ar putea fi de ajutor, prin secvențierea directă a tuturor secvențelor unei populații de *archaea*, fără etape de transport sau manipulare în laborator. *Archaea* sunt la fel de abundente ca bacteriile, dar mult mai puțin cunoscute și studiate, tocmai din aceste motive.

Cercetătorul german Wolfram Zillig, care a decedat recent, a colectat *arhaea* în zone îndepărtate ale Pământului: în Islanda, cu gheizerele sale, și în Parcul Național Yellowstone, care este aproape ca o fereastră către părțile interioare ale lumii noastre. El a urcat chiar și în craterele vulcanilor, fiind un aventurier și un motor al acestei cercetări. Mostrele sale sunt folosite și astăzi. Karl O. Stetter le studiază, specializându-se în special în paraziții lor. *Archaea* adăpostesc paraziți cu aspect de bilă care se lipesc de suprafață și ajută *archaea* să supraviețuiască. *Archaea* gazdă se numește *Ignicoccus hospitalism*, iar paraziții minusculi, care călătoresc cu *archaea*, se numesc „pitici călăreți” sau *Nanoarchaeum equitans*. Eu le-aș spune „jochei”!

Ar putea acest ciudat „parazit de jocheu” să fie un virus, eventual un virus gigant? Mie așa mi se pare, dar pot fi doar speculații nebunești. Atunci Stetter ar fi descoperit virușii giganți! Poate că ar trebui să se gândească la asta. Bacteriile nu par să aibă astfel de jochei, dar hidra și un vierme vor fi menționate - și cum rămâne cu noi?

Archaea au membrane speciale, care conțin molecule de eter, și pot avea astfel un avantaj pentru supraviețuirea în condiții extreme. *Archaea* nu provoacă în mod normal boli; ele nu sunt familiarizate cu metabolismul celulelor noastre și poate că acesta este motivul pentru care nu deranjează nimic. Sau poate că au coevoluat cu noi atât de mult timp, deoarece sunt foarte vechi.

Un fost student al lui Zilligs a fost David Prangishvili, în prezent la Institutul Pasteur din Paris. El studiază *arhaea* termofile împreună cu virușii lor, care preferă temperaturi de peste 80°C. Unele dintre acestea supraviețuiesc chiar și unei proceduri normale de sterilizare în laborator, care presupunem că ucide toate aceste microorganisme - dar nu trebuie să ne facem griji, deoarece acestea nu provoacă boli. El a detectat până acum 24 de familii de virusuri, care sunt atât de diverse ca formă și proprietăți încât nu pot fi clasificate cu ușurință. Acestea nu arată deloc ca niște virusuri: unul este format din două brațe lungi cu cârlige la fiecare capăt și o regiune centrală mai groasă, virusul cu două cozi *Acidianus* (ATV). Altele arată, în micrografiile electronice, ca lămâile, bețele, spiralele sau sticlele. Chiar și în cele mai îndepărtate regiuni ale lumii, structurile acestor virusuri ciudate se aseamănă, dacă întâlnesc condiții de mediu similare. Aceasta înseamnă că mediul special trebuie să conducă la astfel de structuri. Se pare că maxima „forma urmează funcția” este valabilă și în natură, și nu numai în artă sau în arhitectură și design.

Toate *arhaea* și majoritatea virușilor lor conțin ADN bicatenar, care este mai stabil decât ARN-ul. Este posibil ca extremofilele să nu găzduiască viruși ARN, care ar putea fi prea labili în medii fierbinți. Transcriptaza inversă responsabilă de transcrierea ARN în ADN poate fi într-adevăr găsită în *archaea*, dar la ce folosește? Produce retrotranspozoni, presupun, sărind gene, pentru modificarea ADN-ului prin mecanisme de „*copy-and-paste*”. Unele secvențe virale din virusurile arhaice sunt înrudite la distanță cu herpesvirusurile actuale - indiferent de semnificația acestei relații. Recent, a fost detectată o structură virală necunoscută, în care o proteină este înfășurată în jurul ADN-ului ca un helix, iar ADN-ul este împachetat mai puțin strâns - poate un avantaj la temperaturi ridicate?

Există, de asemenea, viruși din *archaea* cu cap și coadă icosaedrice, care seamănă cu fagii bacteriilor. Acestea apar în lacurile care conțin concentrații ridicate de sare, dar nu și în izvoarele termale. De ce și cum contribuie sarea la astfel de structuri nu se știe cu adevărat. Astfel, diferite tipuri de *archaea* adăpostesc diferite tipuri de fagi.

Archaea nu trăiesc întotdeauna în condiții extreme. Ele se găsesc și în fecalele oamenilor sau ale rumegătoarelor, cum ar fi vacile.

Archaea au un sistem imunitar puternic, un sistem de apărare antiviral, care este îndreptat împotriva ciclului de viață lytic al virușilor. De asemenea, au sistemul de apărare CRISPR/Cas9 împotriva inamicilor ADN-ului, cum ar fi fagii. Toate acestea sunt foarte asemănătoare cu bacteriile și fagii lor.

Ar putea *archaea* și virușii lor să aibă succes și în cazul unor catastrofe care aduc noi condiții extreme? Viața se poate adapta la extreme. Aceasta este ceea ce ne învață *archaea*. Sunt ele, așadar, și cei mai buni supraviețuitori? Acest lucru poate depinde de rapiditatea cu care au loc schimbările. Poate că nu, poate că sunt prea lente pentru a se adapta! Supraviețuirea în noi condiții extreme necesită evoluția unor noi căi metabolice, iar acest lucru necesită timp. Pot oamenii să învețe de la *archaea* cum să facă față noilor schimbări de mediu? Adaptarea ar necesita mult timp. Supraviețuirea nu poate avea loc rapid - nu a avut loc în trecut, din câte știm noi. Așadar, oamenii ar dispărea probabil înainte de a deveni extremofili!

Mulți viruși din *archaea* au gene necunoscute. De unde provin acestea? Probabil nu din celule, unde nu pot fi identificate. Spectrul genelor din virusuri este mult mai mare decât cel al tuturor celulelor la un loc. Virusurile dezvoltă rapid gene noi, inclusiv virusurile ADN, datorită replicării lor predispuse la erori. Virusurile sunt motoare ale evoluției. Ei sunt inventatorii, testează numeroasele posibilități și furnizează informații noi celulelor, nu invers. Așadar, ne vor ajuta virușii să devenim termofili și să supraviețuim mai mult? Probabil că au făcut-o în trecut.

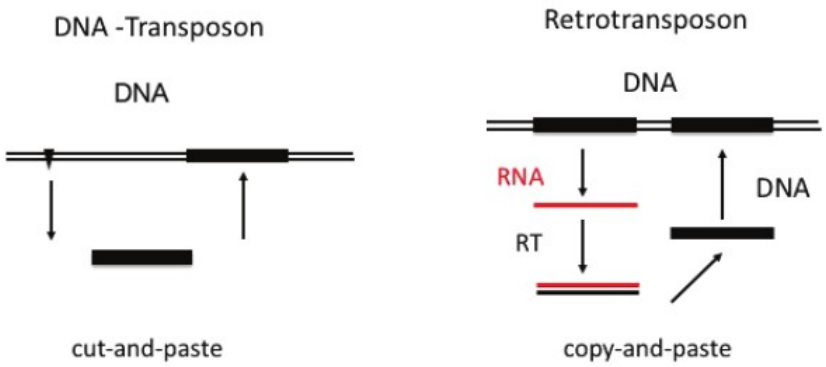
7. Virușii ca fosile

Virușii moșteniți

Howard Temin nu numai că a detectat enzima transcriptază inversă, descrisă în cap. 3; el a descoperit și virușii endogeni. A fost cel mai imaginativ pionier în domeniul retrovirușilor. Împotriva unei rezistențe înverșunate din partea publicului și chiar din partea propriilor săi colaboratori, el a postulat că trebuie să existe o formă ereditară de retrovirus conținând ARN cu un intermediar ADN în genomurile ADN. Acesta este modul în care, împreună cu alții, a descoperit nu numai transcriptaza inversă, ci și virusurile endogene. Virusurile endogene au nevoie de o transcriptază inversă pentru a transcrie ARN-ul viral în ADN. Am fost unul dintre necredincioși și nu am reușit să detectez transcriptaza inversă.

Virusurile se transmit în mod normal „orizontal” sub formă de viruși exogeni, care se pot răspândi în interiorul organismului și, de asemenea, de la o persoană la alta. Cu toate acestea, astfel de virusuri pot infecta uneori și celulele germinale; ele sunt apoi transmise „pe verticală” de la o generație la alta. Acesta este în mod normal un eveniment foarte rar - dar se poate întâmpla, deoarece o infecție virală implică trilioane de viruși în organism. Retrovirusurile se integrează în mod normal în celulele somatice, dar unele ajung și în celulele germinale, ca provirusuri ADN, și

sunt apoi transmise ca atare progeniturii. Putem moşteni viruşi de la părinţii noştri? Nu ar trebui - şi acesta este motivul pentru care terapia genică nu permite utilizarea virusilor replicanţi, care ar putea intra în celulele germinale şi ajunge la generaţiile viitoare. În cercetare, acesta este un domeniu absolut interzis.



Gene săritoare sau elemente transpozabile: ADN-transpozonii sau retrotranspozonii conduc la deplasarea sau duplicarea genelor în genomul celulelor.

Majoritatea virusilor „endogeni" moşteniţi provin de la retrovirusuri. Dar, de fapt, şi alţi viruşi pot ajunge în genomul nostru, chiar şi virusii care conţin ARN şi care nu trec niciodată printr-o etapă ADN profită de una dintre numeroasele molecule de transcriptază inversă care se află în celulele noastre şi fac copii ADN, permiţând astfel integrarea. Acest lucru este studiat în prezent într-un nou domeniu de cercetare, *paleovirologia*, care a luat naştere prin noile metodologii puternice de secvenţiere. Cercetătorii au căutat cu nerăbdare viruşi în genomul nostru şi i-au găsit.

Adesea, virusii nu mai produc particule virale reale: sunt defecţi. Secvenţele virale endogene moştenite rămân integrate în locuri fixe şi, prin aceasta, pot fi diferenţiate de infecţiile acute nou apărute, care conduc la o integrare mai mult sau mai puţin aleatorie. Aceasta este o distincţie simplă şi uşor de făcut.

Tranziţia de la virusii exogeni la cei endogeni va fi discutată folosind ca exemplu koala australieni - deoarece în acest caz se poate observa procesul de endogenizare aproape în timp real. Şi cititorul ar putea fi surprins să afle că până şi virusurile Ebola pot intra în liniile germinale - ceea ce, din păcate, nu s-a întâmplat la oameni, dar s-a întâmplat la lilieci, porci şi canguri. Din păcate? Acest lucru trebuie să fie explicat mai în detaliu. Acesta este mesajul: virusii endogeni protejează împotriva virusilor exogeni: Nu intraţi!

Virusurile exogene, în primul rând retrovirusurile, supravieţuiesc în genomul unei celule (somatice) atâta timp cât această celulă trăieşte. În cazul HIV, limfocitele infectate au o durată de viaţă de până la 60 de zile. Apoi, celulele vor muri, împreună cu provirusul ADN integrat. Până atunci, celulele producătoare de virus au eliberat 10^{10} virioni pe zi la un pacient. Cu toate acestea, o astfel de supravieţuire poate fi perpetuată aproape pentru totdeauna dacă provirusul ADN se integrează într-o celulă germinală, deoarece celulele germinale sunt transmise din generaţie în generaţie. Astfel, retrovirusurile din genomul unei mame sau al unui tată sunt moştenite de copii ca gene proprii, ca „sine", nu ca material străin. Acest lucru se întâmplă de aproximativ 100 de milioane de ani, sau poate de mai mult timp. Spre deosebire de celulele somatice, celulele germinale nu produc în mod normal progenituri, nu produc noi particule virale. 100 de milioane de ani nu reprezintă o limită netă, însă perioadele mai lungi de integrare sunt dificil de dovedit, deoarece secvenţele virale suferă mutaţii, ştergeri şi modificări, care, la un moment dat, se acumulează într-o asemenea măsură încât nu mai este posibilă recunoaşterea originii virale a ADN-ului.

De ce s-au acumulat virusii endogeni în genomurile noastre? Acestea trebuie să provină din infecţii virale reale. De ce s-au păstrat în genomurile noastre ca provirusuri ADN timp de milioane de ani? Din întâmplare? Din greşeală? Este integrarea un adăpost sigur pentru viruşi, ascunzându-se ca gene celulare şi evitând recunoaşterea imună de către gazdă? Este un virus endogen protejat împotriva sistemului imunitar al gazdei? - Dacă da, atunci integrarea ar fi foarte benefică pentru virus - dar şi pentru celulă, după cum vom vedea. Toate acestea sunt adevărate.

Celula nu poate scăpa aproape niciodată de un provirus ADN endogen, integrat. Unele secvenţe reziduale rămân întotdeauna în urmă. Acestea sunt capetele provirusurilor ADN, promotorii genelor virale, *repetiţiile terminale lungi* (LTR). Acestea sunt identice la cele două capete ale provirusului ADN, din cauza mecanismului de replicare prin care au fost generate. Acestea se pot recombina după integrare şi pot elimina astfel secvenţele intermediare, despicând structurile de tip lariat şi lăsând în urmă o singură LTR. Acest lucru duce la apariţia a numeroase LTR solo şi doar a câtorva retrovirusuri de lungime întreagă. (Spre deosebire de provirusurile ADN din celulele mamiferelor, profagele ADN din celulele bacteriene pot fi eliminate. Sunt fagii superiori în această privinţă? Acest proces este indus în bacterii de stres, prin care bacteria gazdă este în mod normal lizată, ceea ce înseamnă că moare. La om nu există în mod normal liză celulară).

Virusul endogen moare atunci când celula moare. De asemenea, celulele mamiferelor contracarează virusţii endogeni prin scurtarea lor, dacă aceştia devin inutili cu timpul. „Inutil” înseamnă că acestea nu prezintă niciun avantaj, nu mai protejează celula împotriva virusţilor externi (a se vedea mai jos). În mod normal, doar ceea ce rămâne are vreo funcţie.

Acesta este modul în care atât de mulţi virusi paralizaţi s-au acumulat în genomurile noastre, un proces care a continuat mereu timp de milioane de ani. Adesea, printre primele gene pierdute sunt cele care codifică proteinele de înveliş „**Env**”. Proteinele **Env** sunt necesare pentru ambalarea şi eliberarea particulelor virale intacte. Fără învelişul **Env**, virusţii sunt „goi”, nu pot părăsi o celulă şi nu pot intra într-o celulă nouă. Dar, şi aici, există două posibilităţi: **Env** nu numai că poate fi pierdut, dar poate fi şi dobândit în timpul evoluţiei sau împrumutat de la un virus ajutător.

În plus, virusurile endogene pot fi inactivate prin mutageneză - acest mecanism poate scăpa cel puţin funcţional de virusul endogen. Codonii „stop” apar atunci când virusţii nu mai sunt selectaţi, nu mai ajută la apărarea unei celule împotriva altor virusi, deci încep să se deterioreze. Virusţii endogeni pot duce într-adevăr la avantaje surprinzătoare pentru o celulă. Ei îşi pot proteja celula gazdă împotriva suprainfecţiei cu alţi virusi. **Dacă celula este „ocupată”, ocupată cu replicarea primului virus, atunci blochează pătrunderea unui al doilea virus**. Acest fenomen se mai numeşte şi „*interferenţă virală*”, ceea ce ne aminteşte de „interferon”, o moleculă de apărare antivirală la mamifere, despre care se va discuta (cap. 9). De asemenea, fagii pot ocupa o celulă gazdă bacteriană, împiedicând alţi fagi să o infecteze. În cazul bacteriilor, fenomenul este cunoscut sub numele de „*excluderea superinfecţiei*” - nicio intrare. Chiar şi bioelementele străvechi din punct de vedere evolutiv, viroizii, care constau doar din ARNnc necodificatoare goale, distrug concurenţii prin scindarea lor. Acest mecanism, numit „*silencing*”, este un fenomen foarte general în apărarea imunitară. El se bazează pe ARN, dar şi proteinele virale pot ţine la distanţă virusţii concurenţi prin ocuparea receptorilor de la suprafaţa celulelor, care sunt adesea ancorele de intrare virală. Acesta este doar unul dintre numeroasele mecanisme de apărare virale, care pot varia foarte mult. În general, virusţii se apără împotriva altor virusi furnizând celulei o apărare antivirală, cunoscută în general drept sistemul imunitar al celulei sau al organismului. Toate sistemele imunitare cunoscute au fost construite de virusi. Şi sunt construite împotriva virusţilor! Ambele, virusţii se aseamănă cu apărarea antivirală!

Aceasta este o afirmaţie puternică, dar poate fi dovedită. Există beneficii reciproce pentru virus şi celulă. Astfel, virusţii - chiar şi virusţii schilodiţi - pot fi încă utili gazdei lor şi, prin urmare, este posibil să nu fi dispărut, ci să fi rezistat miliarde de ani în genomurile noastre.

A fost un şoc pentru comunitatea ştiinţifică din întreaga lume când s-a descoperit că genomul nostru uman este compus în proporţie de aproape 50% din retrovirusuri sau elemente asemănătoare virusurilor. Adesea, acestea nu sunt virusuri intacte, ci retrovirusuri degenerate. Acesta a fost unul dintre cele mai spectaculoase rezultate ştiinţifice ale mileniului nostru de până acum. Este valabil pentru toate organismele eucariote: mamifere, plante, insecte, drojdii cu sporii lor etc. O altă surpriză este faptul că chiar şi elementele retrovirale integrate defectuoase se pot deplasa - dar numai în interiorul celulei, fără a o putea părăsi vreodată. Cu toate acestea, ele sunt transmise generaţiilor următoare ca gene „celulare” şi sunt greu de eliminat.

Cu toate acestea, o protecție foarte surprinzătoare funcționează în timpul fertilizării. Un nou embrion pornește de la zero. Acesta moștenește genele parentale cu toți retrovirușii endogeni. Totuși, acestea sunt în mod normal inactivate prin „*silencing*”, prin inactivare funcțională. Acesta este un aranjament fantastic al naturii pentru a închide rămășițele parentale și a garanta un nou început pentru generația următoare. Acest mecanism de *silențiere* a fost descoperit abia recent. Reducerea la tăcere a virușilor endogeni se bazează pe modificări chimice ale ADN-ului sau ale cromatinei, proteina de ambalare a ADN-ului. Genele de concepție, destinate utilizării în terapia genică, sunt de asemenea reduse la tăcere în celulele bolnave ca fiind potențial periculoase - spre dezamăgirea cercetătorilor, a medicilor și a pacienților.

Virușii endogeni există doar în eucariote? Dar bacteriile? Da, într-adevăr, ele există și în bacterii: până la 20 % din genomurile bacteriene constau în profagi ADN. Și doar recent s-a descoperit că multe dintre profage sunt fragmentate și intercalate de alte secvențe *spațiatoare*. Acesta este deci sistemul imunitar al bacteriilor împotriva fagilor, denumit CRISPR/Cas9, cea mai interesantă descoperire din cercetarea modernă în domeniul biologiei moleculare. Pe scurt, profagele ADN integrate sau provirusurile ADN își protejează gazdele împotriva fagilor și, respectiv, a virușilor. În primul caz, gazdele sunt bacterii/procariote, iar în celălalt caz, eucariote - inclusiv noi.

Phoenix din ADN

Genomul uman codifică aproximativ 40.000 de retrovirușii endogeni umani (HERV), integrați ca *provirușii ADN*. Unele dintre acestea sunt suficient de intacte pentru a fi activate artificial în celule în cultură, prin utilizarea unor condiții de mediu adecvate, cum ar fi lumina ultravioletă, înfometarea sau stresul celular, sau prin molecule de semnalizare, cum ar fi interferonul. Un grup al acestor retrovirusuri endogene umane, HERV-K, este încă activ și poate produce proteine - în cazuri rare chiar particule virale intacte - care pot fi observate la microscopul electronic. Cu toate acestea, în mod normal, acestea nu se pot răspândi în alte celule. Unii dintre acești virușii au fost găsiți în placenta umană, în creierul embrionilor de șoarece și unii pot juca un rol în cancer, cum ar fi melanomul malign sau în boli precum artrita. Este prea devreme pentru a spune dacă aceste observații vor avea o importanță generală pentru boli.

Adesea, HERV-urile nu sunt complet intacte și nu se pot replica. De unde știm că acești virușii endogeni sunt derivați din virușii reali, că genomul nostru este într-adevăr un cimitir pentru virușii fosili? Aceasta a fost o întrebare atât de importantă încât două grupuri au încercat să o dovedească, ceea ce a susținut puternic observația. Thierry Heidmann, din Paris, a analizat secvențele virale ale genomului uman și a aliniat nouă astfel de secvențe retrovirale endogene fosile. Toate acestea erau pline de codoni stop și fiecare dintre ele era incapabilă să exprime proteine, particule virale complete sau să se reproducă. Cu toate acestea, codonii de oprire nu erau distribuiți uniform, astfel încât a putut găsi regiuni cu cadre de lectură deschise și să le pună împreună. El a reconstruit un genom retroviral complet, a sintetizat secvența sub formă de ADN și a transferat-o în celule. Într-adevăr, a fost produs un retrovirus replicant, care a putut fi identificat la microscopul electronic ca fiind un retrovirus tipic, unul care putea infecta recent alte celule, inclusiv celulele umane. Aceasta a fost o dovadă izbitoare a faptului că retrovirusurile endogene „moarte”, care populează genomurile noastre în număr mare, provin într-adevăr de la virușii intacți reali - dintre care majoritatea au dispărut între timp. Aceasta a fost o înviere total neașteptată a unui virus antic - și a fost înfricoșătoare. Ar fi meritat unele critici, chiar proteste publice masive, deoarece un virus care a existat în urmă cu 35 de milioane de ani și a fost activ până în urmă cu aproximativ 1 milion de ani ar putea fi, eventual, dăunător și astăzi și ar putea provoca chiar o boală necunoscută. Spre surprinderea mea, nu a existat niciun fel de protest din partea presei sau a publicului. Au trecut ei cu vederea riscurile potențiale sau nimeni nu a înțeles experimentul? Bineînțeles că autorii au luat toate măsurile de precauție necesare. Virusul a fost numit Phoenix, înviat - nu din cenușă, ca în mitologia greacă antică, ci din genomul nostru - pentru a deveni din nou un virus adevărat.

Independent de aceasta, Aris Katzourakis din Anglia a comparat secvenţele diferitelor retrovirusuri endogene de mamifere şi a asamblat o secvenţă consensuală din acestea, ceea ce i-a permis să reconstruiască un virus infecţios şi capabil de replicare, pe care l-a numit „HERVcon” (**con** pentru *consens*). El a putut infecta celule şi chiar animale cu acesta. Katzourakis a fost, de asemenea, interesat de reconstrucţia altor virusuri vechi din genomuri existente. Unul dintre acestea a fost un retrovirus de iepure dintr-un virus endogen de iepure. El l-a denumit, făcând un mic joc de cuvinte, „RELIK”, care înseamnă „*rabbit endogenous lentivirus type K*”. Acesta a fost endogenizat în urmă cu aproximativ 12 milioane de ani în genomul iepurilor şi este un *lentivirus* complicat de un tip similar cu HIV. Aceste virusuri sunt mai complexe, cu mai multe gene auxiliare, decât retrovirușii adesea depistați. Până la descoperirea RELIK, se credea în general că astfel de *lentivirusuri* complexe nu pot deveni viruși endogeni. Ei bine, ei pot. Aceasta este, de asemenea, o dovadă că un virus de tip HIV a existat cu mult timp în urmă. Ar putea fi chiar mai vechi decât se poate concluziona din experiment. De ce a ales să analizeze genomul iepurelui nu este clar. Crescătorii de iepuri au sponsorizat experimentul?

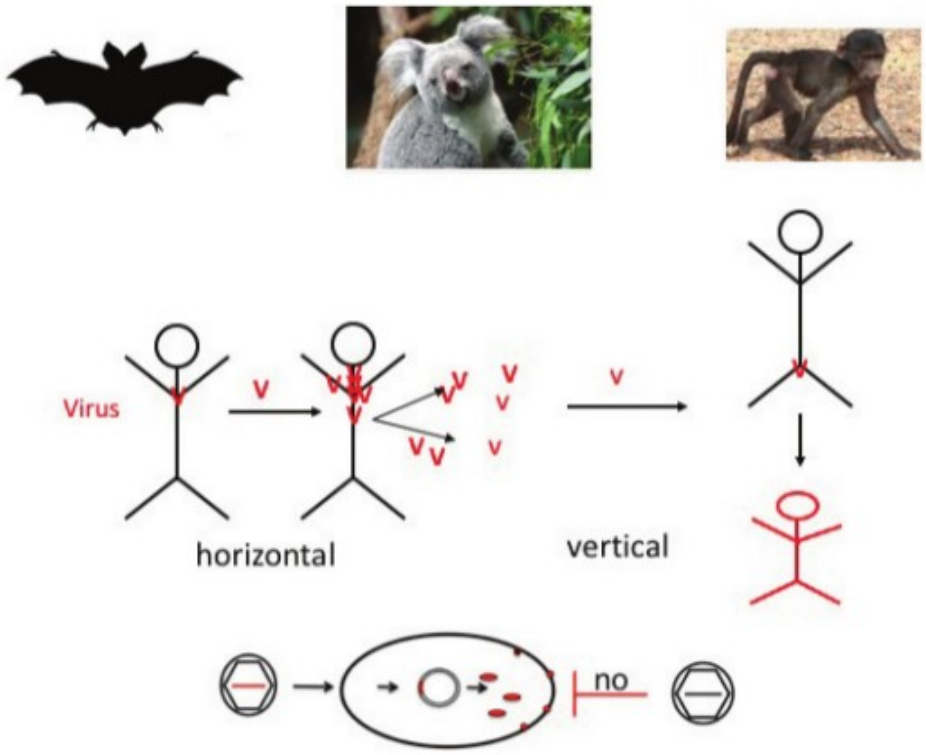
Am putea căuta alți viruși în genomuri? Se pot găsi și viruși necunoscuți? Este necesar un algoritm de căutare a virușilor pentru a găsi viruși necunoscuți. Nu este o sarcină ușoară. Cum se poate determina vârsta acestor viruși străvechi - ce fel de ceas ticăie? Pentru determinarea vârstei, se pot compara capetele virușilor, promotorii virali, repetițiile terminale lungi (LTR) menționate mai sus, care flanchează provirusul HERV-DNA. Acestea sunt identice în timpul sintezei provirusului ADN. Cu timpul, acestea pot acumula mutații - ca orice altă genă. Presupunând o anumită rată de mutație, acest lucru poate duce la diferite modele de mutații din care se poate deduce cu cât timp în urmă cele două LTR-uri ar fi putut diverge. Unele HERV-uri sunt vechi de 100 de milioane de ani. Pentru unul dintre acestea, HERV-K, pe care l-am analizat, am determinat o vârstă de 35 de milioane de ani.

Cum supraviețuiesc koala virușilor mortali

Koala fac parte dintre animalele preferate din Australia. Multe dintre ele mor în accidente de mașină. De aceea, există spitale speciale. Vânătoarea lor a crescut, de asemenea, șansele lor de dispariție. Pentru a le salva, multe dintre ele au fost transferate pe unele insule din jurul Australiei şi ținute în custodie protectoare Cu toate acestea, acolo au contractat virusul leucemiei maimuțelor gibon, un retrovirus al maimuțelor, și multe dintre ele au murit - dar unele au supraviețuit totuși. Studii mai detaliate au arătat că rezistența neașteptată a supraviețuitorilor se datorează secvențelor de virus de maimuță integrate în genomul koala. Secvențele virale erau prezente în toate celulele koala, în același loc de integrare din fiecare celulă, indicând faptul că secvențele virale fuseseră endogeneizate în acel loc și moștenite în mod stabil. În schimb, virușii nou infectați nu au o preferință pentru un singur loc de integrare în genom și se integrează în mai multe locuri la întâmplare. Acesta este un test simplu, dar foarte informativ.

Procesul de endogeneizare trebuie să fi avut loc în timpul celor o sută de ani în care koala au fost evacuați de pe continent, unde nu au fost detectate astfel de secvențe în genomul koala. Se pare că virusul a fost capabil nu numai să se reproducă în celulele somatice ale koala, ci și să pătrundă în linia germinală a acestora, ceea ce a dus la integrarea virală în locuri fixe în progeniturile lor. Astfel, secvențele retrovirale au fost moștenite ca viruși endogeni - într-o perioadă surprinzător de scurtă de 100 de ani. Aceasta a fost endogeneizarea în timp real, de la viruși exogeni la viruși endogeni - și surprinzător de rapid. Cercetătorii au început să studieze procesul ca un „*reality show*” pentru endogeneizare. Virușii endogeni au devenit „sinele” organismului și nu mai provoacă niciun rău. Rezultatul important este că virușii endogeni îi protejează pe koala împotriva virușilor exogeni - un fenomen cunoscut și în alte cazuri: virusul de maimuță SIV, care a dus la HIV la om, nu provoacă moartea sau chiar îmbolnăvirea maimuțelor. De asemenea, virusurile Ebola nu mai ucid liliecii odată ce au devenit virusuri endogene. Ideea este „nu mai există”, deoarece, probabil, virusurile și-au ucis inițial gazdele, dar, după suficient timp, a evoluat în cele din urmă o coexistență, făcând

supraviețuitorii rezistenți. Cum ajung virușii în celulele germinale, care sunt receptorii, cât durează endogeneizarea? Acestea sunt câteva dintre întrebările importante.



***Sus şi mijloc**: Liliacul, koala, maimuța și omul pot dobândi retrovirusuri endogene prin transmitere verticală (moștenite de viruși în celulele germinale), protejându-se împotriva altor infecții virale (fără intrare), transmiterea virală orizontală se răspândește prin intermediul celulelor somatice.*
***Jos**: Virusurile din interiorul celulelor secretă factori care împiedică accesul altor virusuri, „no entry«», astfel încât virusurile determină apărarea antivirală - și imunizează gazda.*

Endogenizarea în 100 de ani ar corespunde la aproximativ 20 de generaţii de koala. Ne-am fi așteptat să fie necesari mii de ani. Ne putem aștepta la un interval de timp similar pentru infectarea oamenilor cu HIV? Ar fi atunci oamenii protejați împotriva HIV? Zece generaţii de koala ar corespunde la 300 sau mai mulţi ani la oameni. Aceasta este o perioadă teribil de lungă. Totuși, genomul nostru este plin de secvențe de retrovirusuri care s-au acumulat în timpul evoluției. Acestea sunt mult, mult mai vechi. RELIK la iepuri a fost endogenizat acum 12 milioane de ani. Este un virus complex, similar cu HIV. În cazul HIV nici măcar nu este clar dacă virusul este capabil să infecteze celulele germinale. Este posibil ca receptorul pentru intrarea virusului să nu existe pe celulele noastre germinale, iar dacă nu există, atunci HIV ar putea să nu le poată infecta. Numai în cazul unei astfel de infecții HIV ar putea fi moștenit. Se poate schimba HIV, pentru a pătrunde în celulele germinale? Nu este imposibil. Recent, două publicații au indicat că HIV este într-adevăr capabil să pătrundă în linia germinală umană. Așadar, putem aștepta și vedea ce se va întâmpla - totuși, protecția oamenilor împotriva HIV, chiar și printr-un proces rapid de endogeneizare, va fi mult prea lentă și va costa multe vieți. Există un precedent pentru un HIV endogen: virusurile spumoase, care sunt un exemplu destul de surprinzător. Acestea seamănă cu HIV prin faptul că au multe gene auxiliare și prezintă o reglementare complicată a expresiei genelor. Cu toate acestea, ele nu sunt patogene pentru om. „Spumos” provine de la aspectul plămânului animalelor sau culturilor celulare infectate. Atât maimuțele, cât și oamenii pot fi infectați, dar nu se îmbolnăvesc. Virusul se poate replica doar la maimuțe, nu și la oameni, astfel încât oamenii sunt ca o „stradă fără ieșire” pentru acest virus. Acesta este inofensiv la om. Virusurile spumoase sunt cele mai vechi retrovirusuri complexe (asemănătoare HIV) cunoscute, vechi de 100 de milioane de ani. Cât timp este necesar pentru ca un virus să devină inofensiv? Nu

știm, se întâmplă. Evident. SIV nu ucide maimuțele - nu mai ucide - deci de când a fost acesta cazul?

Poate că există mai mulți viruși de acest tip. Aceștea sunt dificil de detectat, deoarece au un genom ADN și astfel, la prima vedere, nu seamănă cu retrovirusurile. De asemenea, virusul ovin JSV (*Jaagsiekte Sheep Virus*, echivalent cu virusul uman care formează placenta, HERV-W) există atât ca virus exogen, cât și ca virus endogen.

Virusurile peștilor pot prezenta, de asemenea, astfel de roluri duble, retrovirusurile replicându-se ca virusuri exogene și, de asemenea, integrate ca virusuri endogene. Se cunosc foarte puține lucruri despre retrovirusurile peștilor, însă numărul instalațiilor de creștere a peștilor este în creștere pentru a face față cererii de alimente. Poate că un tânăr virusolog ar dori să le studieze și ar merge la laureatul german al premiului Nobel Christiane Nusslein-Volhard, care crește peste 20 000 de pești zebră în acvariile sale, care sunt îngrămădite până la acoperiș la Institutul Max Planck din Tubingen. Acești pești au devenit vedetele cercetării, deoarece sunt transparenți și se pot „vedea” efectele mutațiilor lor. Pentru acest lucru, ea a fost ovaționată în picioare în SUA. Regina muștelor a devenit regina peștilor. Ei au cu siguranță viruși - doar că nu știm încă prea multe despre ei.

Paleovirologie

Câte tipuri diferite de viruși endogeni există în genomurile noastre? Până acum s-a discutat posibilitatea ca retrovirusurile să se integreze în două moduri: orizontal și vertical. Particulele de virus se răspândesc de la celulă la celulă sau de la animal la animal prin transmitere orizontală. Apoi există retroviruşii cu transmitere verticală, care infectează celulele germinale și se integrează în linia germinală. Cu ajutorul acestor celule sunt transmise generației următoare. Atunci când genomul uman a fost secvențiat, în genomul nostru au fost detectate nu numai secvențe retrovirale, ci și secvențe (ADN) ale virusurilor ADN și ADN ale virusurilor ARN, virusurile Borna și Ebola. Aceste două virusuri nu adoptă niciodată în mod normal ADN intermediar. Ele trebuie să se fi „convertit în secret”, printr-un mecanism neobișnuit, pentru a deveni virusuri ADN. O transcriptază inversă (RT) ar fi putut fi împrumutată în interiorul celulei și ar fi ajutat la transcrierea inversă a ARN-ului în ADN, astfel încât virusurile ARN să poată fi integrate în genom sub formă de copii ADN. Celulele noastre sunt pline de RT, după cum am aflat recent. Acestea pot proveni de la alți retrovirusuri sau retrotranspozoni și apoi pot fi deturnate. Acesta este modul în care virusurile Borna și Ebola s-au integrat în genomurile animalelor. Secvența genomului lor nu s-a schimbat prea mult de-a lungul timpului, ceea ce a condus la presupunerea că trebuie să servească unui anumit scop. Într-adevăr, ele protejează împotriva noilor infecții cu același virus, prin interferență. Bornavirusurile sunt prezente sub formă de ADN în multe specii, la oameni, maimuțe, marmosete, elefanți, lemuri, șoareci, șobolani și păsări - dar nu și la cai. Acesta este modul în care oamenii ar fi putut deveni rezistenți, cu secvențele lor endogene de Bornavirus împotriva infecțiilor cu Bornavirusuri exogene. La cai nu au fost detectate Bornavirusuri endogene, iar aceștia se îmbolnăvesc de Bornavirusuri exogene, suferind de depresie - o boală a cailor. La om, Bornavirusurile endogene exprimă unele proteine nucleare virale foarte conservate, care ne protejează împotriva infecțiilor virale *de novo*. Depresia la om are alte cauze. Virusurile Ebola pot fi urmărite în genomurile animalelor până acum aproximativ 40 de milioane de ani. Unele pot fi chiar vechi de 100 de milioane de ani. Acestea sunt surprinzător de intacte și chiar și astăzi exprimă unele proteine virale care sunt înrudite cu o tulpină Zair actuală. Ebola și virusul înrudit al bolii Marburg, ambele filovirusuri (un nume care se referă la aspectul lor filiform în imaginile microscopice electronice) au intrat în genomuri independent. Filovirusurile prezente în genomuri pot fi găsite la liliecii din America de Nord, la primatele asiatice, la rozătoarele din America de Sud și Australia și, pe lângă lilieci, au fost găsite și la porci. Spre deosebire de bornavirusuri, virusurile Ebola nu s-au integrat niciodată în genomul uman, deci nu suntem protejați. De ce nu suntem protejați? Poate că infecția a avut loc prea recent, deoarece endogeneizarea necesită timp, așa cum am discutat mai sus în legătură cu koala. Ar putea fi, de asemenea, posibil ca celulele germinale umane să nu poată fi infectate de virusul Ebola. Acest lucru ar trebui testat! Un bun proiect de cercetare.

Aproximativ 10 alte tipuri de virusuri și-au găsit drumul nelegitim în genomurile mamiferelor. Printre acestea s-au numărat chiar și virusuri rare, cum ar fi circovirusurile, cu genomurile lor de ADN monocatenar. Acestea sunt frecvente la porci, găini și porumbei. Trebuie să concluzionăm că aproape toate tipurile de virusuri, cu diferite strategii de replicare, pot ajunge ca viruși endogeni în genomurile mamiferelor. Integrarea este preferată de virușii care se replică în nucleele celulelor. Astfel, integrarea virușilor în genomul uman este în curs de desfășurare și are loc în condiții neobișnuite și protejează gazda.

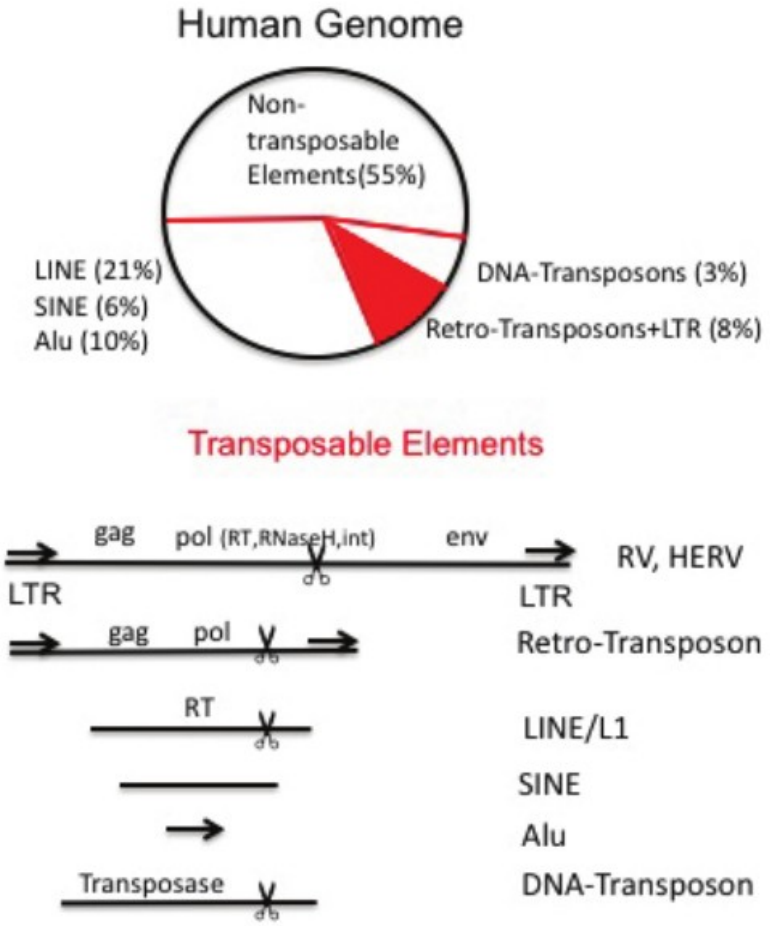
În plus, speciile animale cu viruși endogeni pot produce viruși care sunt infecțioși pentru alte specii și care ar putea provoca boli la acestea. A căutat cineva să vadă dacă un Ebolavirus porcin poate infecta oamenii? Acest lucru ar putea merita să fie testat.

Viruși schilodiți

Aproximativ 50% din materialul nostru genetic este format din retrovirusuri endogene sau gene legate de retrovirusuri. Pe parcursul evoluției, am suferit numeroase infecții cu retrovirusuri, iar toate acestea au lăsat urme în genomul nostru: *Phoenix* în genomul uman și RELIK în genomul iepurelui au fost citate drept dovezi în acest sens. Cu timpul, virușii integrați au suferit mutații și, în unele cazuri, nu mai pot fi recunoscuți ca viruși. Astfel de virusuri degenerate nu se pot deplasa, migra sau pătrunde în alte organisme. Ei rămân în interiorul celulei sau - chiar mai mult decât atât - rămân în nucleul celulei. Virușii vechi devin domesticiți și preferă să rămână „acasă”! Oamenii de știință le numesc „fosile”, iar genomul nostru un „cimitir” al fostelor infecții virale. Mormintele au o vechime de cel puțin 35 de milioane de ani, iar unele probabil până la 200 de milioane. Altele sunt la fel de „tinere” ca un milion de ani. În ciuda acestui fapt, aceste relicve virale pot face multe. Ele se pot deplasa de la un loc al ADN la altul, dând naștere termenului „gene săritoare”. Ele pot intra și ieși din genom - dar nu și din celulă. Aceste „gene saltătoare” sunt elemente transpozabile (TE) sau *transpozoni*.

Chiar mai atletice sunt unele virusuri degenerate care pot efectua un „salt” între ele, prin care ADN-ul este transcris în ARN și apoi înapoi în ADN de către transcriptaza inversă. Apoi, această copie de ADN se integrează în genom. Aceste elemente transpozabile sunt denumite retrotranspozoni.

Pentru o vizualizare simplă, gândiți-vă la programul de manipulare a textului de pe computerul dumneavoastră: „*cut-and-paste*” pentru transpozoni și «*copy-and-paste*» pentru retrotranspozoni. În primul caz, o bucată de ADN este tăiată și mutată într-un alt loc din genom și integrată, ceea ce rănește ADN-ul de două ori. În al doilea caz, ADN-ul transcris este integrat, ca un singur eveniment genotoxic. Textul genetic devine mai lung. Crește exact cu dimensiunea fragmentului de ADN transcris. Gena este duplicată - un mecanism extrem de important pentru ca genomul nostru să dobândească noi funcții, prin mutarea unei copii și lăsarea celeilalte intacte ca rezervă. Genomul uman a „uitat” cu mult timp în urmă de procedura simplă „taie și lipește”, însă plantele o folosesc în mod extensiv - „încă”, ar trebui să adăugăm. În această privință, plantele sunt ceva mai de modă veche, poate pentru că metabolizează mai lent și sunt mai puțin capabile să se adapteze, astfel încât două defecte genetice sunt mai inovatoare decât unul singur. Procedeul „taie și lipește” a fost abandonat de genomul nostru în urmă cu aproximativ 35 de milioane de ani, când a trecut la „*copy-and-paste*”. Ar trebui să fim precișii și să facem diferența între transpozoanele ADN și retrotranspozoane; cele două sunt adesea subsumate termenului „elemente transpozabile” (ET). Retrotransposonii provoacă o singură leziune prin integrare, ca o schimbare mai puțin dramatică sau o variație a proprietăților aprobate și de succes.



Genomul uman cu elemente transpozabile, retrovirusurile trunchiate (RV) reprezintă aproximativ 50% din genomul uman şi devin mai scurte odată cu vârsta evolutivă.

Privit în ansamblu, principiul este simplu - transpozonii se comportă ca viruşii, dar cu restricţia că se deplasează numai în interiorul unei celule şi nu între celule; cu alte cuvinte, ei rămân endogeni şi nu sunt exogeni. Încarcerarea viruşilor săritori ar putea fi, de asemenea, interpretată diferit: acest lucru s-ar fi putut întâmpla foarte devreme în timpul evoluţiei, caz în care viruşii endogeni ar fi putut preceda viruşii exogeni. Poate că primii viruşi puteau doar să sară în genomuri şi abia mai târziu au învăţat să migreze de la o celulă la alta sau de la un organism la altul. Un argument în favoarea acestei idei este că proteina de acoperire, proteina de înveliş „**Env**" a retroviruşilor, care este o condiţie prealabilă pentru împachetarea viruşilor şi deplasarea pe distanţe mai mari, a fost dobândită mai târziu decât celelalte gene. Numai atunci când virusul este protejat de un înveliş poate părăsi o celulă şi intra în alta. Cu toate acestea, şi proteina de înveliş se poate pierde. Probabil că au funcţionat ambele mecanisme: achiziţia şi degenerarea - viruşii captivi au început să migreze, iar viruşii în mişcare devin prizonieri. Nu poate fi exclusă nici posibilitatea unui strămoş comun.

Modul în care au fost descoperite toate aceste foste virusuri din genomul nostru a fost prezentat în una dintre cele mai spectaculoase lucrări pe care le-am văzut vreodată. Aceasta a fost publicată chiar la începutul mileniului nostru şi a deschis o direcţie de cercetare complet nouă, punând suficiente întrebări pentru zeci de ani. Când era student, în urmă cu aproximativ 100 de ani, lui Max Planck i s-a spus că nu ar trebui să studieze fizica, deoarece fizica ajunsese la sfârşit şi era moartă. Acesta a fost exact momentul în care mecanica cuantică a început să deschidă un nou tip de fizică, care a rămas în fruntea cercetării timp de o jumătate de secol. Căutarea unui răspuns la întrebarea ce pot însemna secvenţele din genomul nostru ne-ar putea ţine din nou ocupaţi timp de o jumătate de secol. Dacă este suficient!

Lucrarea interesantă la care mă refer a fost publicată în *Nature* în 2001. A fost rezumatul Consorţiului Internaţional de Secvenţiere a Genomului Uman, cu Eric S. Lander ca prim autor şi contribuţii din partea a aproximativ 20 de laboratoare de cercetare din întreaga lume. Titlul său era „*Initial sequencing and analysis of the human genome*”, o lucrare uriaşă, cuprinzând 60 de pagini şi peste 40 de figuri, cea mai mare pe care am văzut-o vreodată în această revistă. Nimeni nu ar fi putut visa din ce este compus genomul nostru: viruşi! Viruşi mai mult sau mai puţin compleţi, ex-viruşi sau elemente asemănătoare virusilor! 50 % sau chiar mai mult! 80%? 100%? Acesta a fost principalul motiv pentru care am scris această carte - am vrut să le povestesc şi altora despre acest lucru şi să încerc să îl explic.

Autorii împart progresul biologiei în secolul XX în patru trimestre a câte 25 de ani fiecare. Primul trimestru a fost redescoperirea cromozomilor şi a moştenirii în contextul legilor lui Gregor Mendel. Al doilea trimestru a fost cel al descoperirii dublului helix ADN ca bază a moştenirii şi a stocării informaţiilor. Al treilea trimestru a adus tehnologiile ADN recombinant şi clonarea genelor, iar al patrulea trimestru descifrarea genelor şi a genomurilor. Până în 2001, au fost secvenţiate aproximativ 599 de virusuri şi viroizi, 205 plasmide naturale (ADN circular cu două catene), 185 de organite, 31 de bacterii, 7 arhaea, o ciupercă, două animale şi o plantă - şi două genomuri umane ale lui J. Watson şi C. Venter. Apoi a apărut lucrarea sus-menţionată, iar din 2001 lucrurile au început să se mişte cu o viteză incredibilă. Aproximativ 95% din genomul uman a fost secvenţiat în doar 15 luni, conţinând de zece ori mai multe secvenţe decât toate cele anterioare împreună. Genomul nostru uman cuprinde 3,2 miliarde de nucleotide. Ce spun acestea? Cea mai mare parte este necunoscută: recunoaştem cele patru litere, dar nu şi ceea ce înseamnă ele, cel puţin nu cea mai mare parte a lor. Primul şoc a fost că adăpostim doar 20.000 de gene, gene codificatoare - adică gene care codifică proteine (autorii au calculat că sunt 30.000, dar cifra a fost între timp corectată şi redusă, acum din nou de la 22.000 la 20.000). Pe baza numărului total de nucleotide, ne-am fi aşteptat la de zece ori mai multe. Era convingerea că oamenii sunt speciali - asta gândesc oamenii! Acum s-a dovedit că oamenii nu au mai multe gene decât multe alte organisme. Ce îi face pe oameni oameni? Pentru a destăinui un secret: genele noastre sunt mai lungi (acesta a fost motivul calculului greşit) şi sunt fragmentate în bucăţi, descrise mai sus ca *exoni* şi *introni*, unde exonii, aproximativ şapte în medie pe genă, pot fi recombinaţi prin *splicing*. *Capacitatea de a combina piesele este ceea ce ne face mari*. Combinatoare. Următoarea mare surpriză a fost că genele noastre nu sunt unice pentru noi, oamenii, ci sunt un potpuriu de gene, chimerii din tot felul de surse: bacterii, arhaea, ciuperci, plante şi prostii, gunoi, „junk” - acesta din urmă mulţi dintre noi nu vor să creadă. Într-adevăr, nu ştim dacă există într-adevăr **junk** în genomul nostru. Majoritatea informaţiilor genetice din genomul nostru nu sunt exclusiv „umane”, ci au apărut prin transfer orizontal de gene (HGT), de la toate celelalte organisme vii din jurul nostru. Aproximativ 10-20% din genomul nostru este identic cu cel al bacteriilor şi aproape 50% cu cel al retrovirusilor sau al elementelor asemănătoare retrovirusilor; 5% provin de la ciuperci; contribuţia arheilor, a plantelor sau a altor viruşi nu poate fi încă cuantificată. Alte gene nu au fost corelate cu funcţii cunoscute, sunt pur şi simplu necunoscute - multe dintre genele necodificatoare sunt în prezent în centrul unei cercetări intense. Suntem cu toţii rude, „fraţi şi surori” - toate fiinţele vii. Îmi amintesc întotdeauna acest lucru dacă se întâmplă să calc pe un vierme al ploii şi să-l omor. Acest lucru a fost amintit şi de compozitorul Thomas Larcher, care mi-a dedicat o piesă muzicală în colecţia sa de piese „Poems”: „*Dont step on the Regenwurm*”!

Acest rezultat spectaculos privind compoziţia genomului nostru şi relaţia dintre toate entităţile vii de pe planeta noastră l-a determinat chiar şi pe Papa Benedict al XVI-lea de atunci să ceară oamenilor de ştiinţă o explicaţie. Cu ceva timp în urmă, lucrarea *Nature* ar fi ajuns probabil pe indexul de cărţi interzise al Vaticanului. Suntem mai puţin unici decât am crezut. Totuşi, oamenii nu sunt complet alungaţi de pe tron; la urma urmei, suntem cele mai complexe fiinţe vii.

Aproape 50% din genomul nostru este format din virusuri fosile: cu cât mai vechi, cu atât mai degenerate şi mai scurte. Rezultă de aici o clasificare simplă, o ierarhie bazată pe lungimea lor: de la lung la scurt, există denumiri precum: HERV, LINE, ADN-Transposoni, SINE şi Alu. Transpozonii ADN nu se potrivesc prea bine, deoarece nu sunt neapărat mai scurţi. O altă regulă

este vizibilă: Cu cât elementele transpozabile sunt mai scurte, cu atât sunt mai abundente, probabil pentru că nu necesită mult spațiu.

Aceste elemente virale nu sunt doar părți ale genomului nostru; ele sunt prezente în moduri similare în toate genomurile tuturor speciilor: pui, șoarece, ornitorinc, oposum, ciuperci, plante, muște - și în speciile inferioare până la viermii Elba (a se vedea cap. 10)) și meduze; nu există excepții. Totuși, există unele diferențe. Oamenii au mai multe LINE, puii nu au SINE, în timp ce ornitorincul are mai multe; orezul și ciupercile nu au retrotransposoni. Până în prezent, nimeni nu a aflat de ce este așa. L-am întrebat pe unul dintre coautorii analizei genomice a ornitorincului, Michael Kube (pe atunci la Institutul Max Planck din Berlin). El nu a putut oferi nicio interpretare - în prezent, nimeni nu o poate face. Cum am obținut un astfel de genom - și toate celelalte specii de asemenea? L-am obținut, la un moment dat în istoria noastră, prin transfer de gene, HGT, și prin diverse infecții virale și alte infecții microbiene. O infecție virală este un mare câștig și un impuls inovator pentru un genom. Multe gene noi sunt inserate dintr-o singură lovitură. Acest lucru este satisfăcător pentru un genom. Virusurile sunt cei mai versatili inventatori. Ei sunt motoarele evoluției. Cititorul ar trebui să observe direcția în care se îndreaptă această utilizare: **Virușii și microorganismele ne-au creat!** Aceasta este o nouă viziune asupra lumii noastre.

Cancer sau genii din viruși?

Aici sunt câteva detalii, pe care cititorul le poate omite, deoarece un rezumat a fost prezentat mai sus. Dar poate că următoarele secțiuni vor fi, de asemenea, informative.

Cele mai mari retroelemente din genomul nostru sunt retrovirușii endogeni umani, HERV. Acestea reprezintă aproximativ 8% din genomul nostru și sunt în număr de 450 000. Cu toate acestea, doar aproximativ 40 000 sunt complet intacte. Au două LTR-uri ca promotori la fiecare capăt și genele **gag** și **pol** pentru replicare. Proteinele **Pol** cuprind o protează virală, transcriptaza inversă, o RNază H și integrază, toate enzimele necesare replicării unui retrovirus complet. Proteina de înveliș **Env** nu este întotdeauna prezentă. Majoritatea retrovirusurilor endogene sunt inactive și pline de mutații. Unele dintre ele pot părăsi celula sub formă de particule, dar nu sunt capabile să infecteze alte celule. Virusurile endogene pe care încă le putem detecta preferă integrarea între genele „reale”, în *introni*, ceea ce este mai puțin dăunător pentru genom decât integrarea în una dintre cele 20.000 de gene reale, genele care codifică proteine. Aparent, numai celulele cu astfel de integrări inofensive au supraviețuit până în prezent; altele nu mai pot fi găsite. Evenimentul de integrare al unui HERV-K particular, pe care l-am analizat, a avut loc, conform calculelor noastre, acum 35 de milioane de ani. Ne putem întreba ce s-a întâmplat în acel moment. Meteoriți, vânturi solare, supernove, schimbări în axa Pământului - orice, nimeni nu știe cu adevărat.

Un coleg de-al meu, Felix Broecker, a reușit să demonstreze că un retrovirus endogen integrat HERV-K poate duce la cancer. Retrovirusurile integrate se pot introduce în direcția „corectă” sau „greșită”, ceea ce înseamnă paralel sau antiparalel cu orientarea genelor vecine. Produsele citite de virus în genele învecinate pot duce la o expresie mai puternică sau mai slabă. Dacă o genă vecină este esențială (cum ar fi o genă supresoare de tumori) și expresia antiparalelă a virusului o inactivează, atunci celula poate deveni o celulă tumorală. Am reușit să demonstrăm acest lucru în condiții de laborator, în celule cultivate. Este aceasta o cauză a cancerului la om? Unde, în ce tumori și cât de des ar putea apărea acest lucru? Întrebări spinoase de acest gen au fost puse de referenții manuscrisului nostru. Noi nu știm. Nici măcar specialiștii în informatică de la Institute for Advanced Study din Princeton nu au avut seturi de date de la tumori derivate de la pacienți care să conțină suficiente date pentru a răspunde la întrebare. Nu cred că va fi posibil să se dea răspunsul, chiar și în principiu. Chiar și un mare consorțiu privind cancerul nu a putut concluziona din datele sale dacă HERV-urile sunt implicate în general în formarea tumorilor sau doar sporadic. HERV-K poate contribui la scleroza laterală amiotrofică (ALS) sporadică la unii pacienți - dar rămâne întrebarea cât de general este acest lucru.

Există multe HERV degenerate, care se pot restrânge până la un singur promotor LTR. Aceasta rămâne dacă virusurile sunt eliminate prin recombinarea celor două LTR identice: tot restul

formează un „lariat” sau o buclă, care este apoi tăiată. Un LTR este cea mai mică rămășiță posibilă, amprenta unui retrovirus. Cu toate acestea, influențează genele vecine prin activarea sau dezactivarea lor - iată ce mai pot face aceste „LTR-uri solo” reziduale de tip promotor, ceea ce este foarte mult!

Următoarele rude destul de apropiate ale retrovirusurilor sunt retrotranspozonii sau retroelementele. Caracteristica lor principală este transpoziția ADN-ului printr-un intermediar ARN prin transcriptază inversă prin „*copy-and-paste*”. Retroelementele sunt destul de asemănătoare cu retrovirusurile, în sensul că codifică o transcriptază inversă, foarfeca moleculară RNase H, integraza și o proteină de legare a ARN pentru transportul și protecția ARN-ului. De asemenea, au repetiții terminale lungi (LTR), care sunt promotorii virali necesari pentru integrare și reglarea expresiei genice. Cu proteinele **Env** pot părăsi celula, fără acestea nu pot. Acestea sunt adesea numite retrotranspozoni endogeni.

Retrotranspozonii au o a doua „aromă”; cea de-a doua este și mai scurtă și a pierdut și promotorii LTR, numiți LINE (long interspersed nuclear elements), având doar două seturi de proteine, „Orf1” și „Orf2”, folosite pentru transport și transcriptaza inversă împreună cu o endonuclază pentru transpoziție. Elementele LINE, sau LI scurte, sunt TE transpozabile care pot sări (transpune) prin mecanismul „*copy-and-paste*” și astfel pot crește dimensiunea genomului prin duplicarea genelor. Ele alcătuiesc 21% din genomul nostru și fiecare are o lungime de 10 000 de nucleotide. Genomul uman adăpostește aproximativ 850 000 de copii ale acestor elemente LINE. Elementele LINE s-au duplicat și s-au amplificat pe parcursul a 80 de milioane de ani și au influențat genomul uman. Unele dintre acestea sunt active și astăzi, aproximativ 100 în creierul embrionilor sau, conform altor estimări, o dată la 10 000 de celule. S-a demonstrat că unele dintre ele pot „sări” în creierul embrionilor de șoarece și pot provoca modificări semnificative. Într-o boală a creierului uman, sindromul Rett, saltul este mai frecvent decât în creierele sănătoase, după cum a demonstrat Fred Gage, un cercetător al creierului din SUA. Au fost raportate aproximativ 60 de astfel de cazuri, care ar putea fi corelate cu noi inserții care pot duce la boli precum hemofilia, boli ale creierului, autism sau cancer. În cele mai recente discuții, chiar și boala Alzheimer, legată de vârstă, a fost legată de elemente de transpoziție de către Fred Gage. La oamenii adulți, în timpul vieții unui neuron au loc, în medie, aproximativ 14 salturi și nimeni nu cunoaște consecințele.

Activarea retroelementelor ar trebui să aibă loc în urma unui stres celular. Un astfel de stres poate fi reprezentat de lumina UV, substanțe chimice, otrăvuri sau agenți care dăunează ADN-ului. Există motive plauzibile pentru activarea TE-urilor. Dacă o celulă este supusă stresului, este posibil să fie nevoită să își schimbe proprietățile pentru a face față stresului - iar retrotranspozonii pot conduce rapid la noi caracteristici și pot garanta o mai bună supraviețuire. Îmi repet „mantra”: virușii sunt motoare ale evoluției și inventatori de noi proprietăți. Nu am putea supraviețui fără ei!

În concluzie, dacă numărul de boli asociate cu LINE nu este vârful unui iceberg, atunci acestea sunt extrem de rare în boli. Aceasta este bănuiala mea, dar s-ar putea să se dovedească că mă înșel prin mai multe rezultate în viitor.

„*Copy-and-paste*” va duce la un singur punct de deteriorare a genomului. Pentru a evita acest lucru, celulele somatice mențin procedura de salt sub un control mai strict decât embrionii. Acolo, saltul poate avea consecințe semnificative. Pot apărea atunci - în afară de boli - și un Mozart, un Newton sau un Einstein - un cancer sau un geniu? Se dezbate posibilitatea ca autismul și afecțiuni precum sindromul Asperger (pe care îl au „înțelepții” cu abilități excepționale) să se dezvolte prin acest mecanism - sau dacă genele săritoare au condus la geniile Newton și Einstein.

Este posibil ca retrotranspozonii să fi contribuit la capacitatea oamenilor de a vorbi, de a dezvolta un comportament social și de a avea o conștiință. Se consideră că și plantele au învățat în acest fel cum să atragă insectele pentru replicare și schimb de gene. „Lotus” este un nume frumos pentru un retro-transposon din plantele cu flori. Numărul de elemente transpozabile, TE, din plantele cultivate este gigantic. La porumb, acesta se ridică la 90%, iar la grâu la peste 80%. Pentru comparație, aproximativ 42% din genomul uman este format din TE-uri, unele estimări ajungând până la 66%. TE nu sunt ușor de găsit în analizele genomice, deoarece nu sunt întotdeauna localizate în aceeași poziție și nu se potrivesc prin aliniere la genomul de referință. Aceste

comparații se bazează în mod normal pe proprietăți conservate. Acesta este motivul pentru care genele jumping și virusurile integrate sunt ușor trecute cu vederea sau chiar sortate ca neimportante în cadrul analizelor de secvențiere. Prin urmare, relevanța lor este subestimată, în ciuda contribuției lor la inovații eficiente în genomurile multor specii.

Retrotranspozonii conduc la duplicarea genelor. Aceasta este frecventă la oameni și este corelată cu proprietăți care ne fac speciali. Specialistul în evoluție Svante Paabo din Leipzig a analizat duplicarea genelor în genomurile umane și a descoperit retrovirusuri endogene și elemente LINE și în genomul omului de Neanderthal. Omul de Neanderthal a trăit undeva între 200.000 și 40.000 de ani în urmă.

La fel ca o statuie grecească, o duplicare genetică este caracterizată de un „picior de sprijin” și un „picior liber”; astfel, un „picior” poate încerca lucruri noi fără riscuri, deoarece celălalt garantează un sprijin sigur. Prin urmare, duplicarea genelor poate fi deosebit de importantă pentru extinderea genomurilor și noile ajustări. Genele duplicate pot, de asemenea, să degenereze și să fie lăsate în urmă ca pseudogene fără nicio funcție reală. Chiar și genomuri întregi - și nu doar gene individuale - pot fi duplicate. Genomul drojdiei și-a dublat dimensiunea în urmă cu aproximativ 100 de milioane de ani. Recordul este deținut de grâu, al cărui genom a crescut de șase ori și, prin urmare, este acum imens, mai mare decât al nostru. Iar lalelele au ajuns de zece ori mai mari decât genomul nostru, cu trei cromozomi înrudiți. Astfel de repetiții ale genomului pot fi o consecință a cultivării, produsă de om.

În genomurile umane, amplificarea genelor este maximă în celulele tumorale, unde multe oncogene cresc de cel puțin douăzeci de ori în număr. Gena *myc*, în special, este amplificată de zece mii de ori în tumorile cerebrale, acesta fiind probabil motivul pentru agresivitatea ridicată a acestei tumori specifice.

Cine a construit ADN-ul - virușii?

Mi-ar fi plăcut să trec cu vederea micile rămășițe virale din genomul nostru, dar ele sunt atât de multe și ar putea face ceva. Fac ele parte din mult discutatul ADN „junk” - gunoi, resturi uitate? Nu există încă un răspuns clar. Unii cititori ar putea dori să treacă mai departe la capitolul următor.

Următorul grup mai mic de elemente transpozabile cuprinde elementele **SINE** (Small Interspersed Nuclear Elements) și mai scurte, care sunt mult mai mici și nu mai pot face aproape nimic. Ele se plimbă prin genomul nostru și influențează alte gene. Acesta este comportamentul lor caracteristic. Acestea deturnează transcriptaza inversă, RT a LINE-urilor mai mari, deoarece nu o au pe a lor. Astfel, ele își datorează existența transcriptazelor inverse străine. SINE-urile au apărut din ARN-uri scurte, care au fost transcrise invers în ADN și integrate ca ADN SINE. SINE-urilor le lipsesc, de asemenea, promotorii virali LTR și, prin urmare, nu au niciun efect perturbator pe distanțe lungi. Ele nu au endonuclază, ci folosesc pur și simplu ruperi de ADN pentru a intra în genomurile ADN. SINE-urile contribuie cu până la aproximativ 13% din genom, însă fiecare dintre ele are o lungime de numai 100 până la 300 de nucleotide. Ele sunt foarte abundente, cu un total de 1,5 milioane de copii. Din punct de vedere istoric, SINE-urile au fost considerate a fi „junk”, însă ele pot conduce la funcții noi.

Cele mai mici TE sunt secvențele **Alu**, lungi de 300 de perechi de baze, cu secvențe ADN repetitive. Secvențele **Alu** aș fi preferat să le omit aici, deoarece fac subiectul destul de complicat pentru cititor. Cu toate acestea, în genomul nostru există aproximativ un milion de astfel de elemente. Aceste 10 % din genomul nostru nu pot fi ignorate. Ele sunt prezente doar în genomul primatelor și nu codifică proteine; ele conțin mai degrabă un promotor intern, nu un LTR, ci unul mai scurt, care afectează genele vecine. Numele lor provine de la o enzimă de restricție **Alu**, derivată din bacteria *Arthrobacter luteus* (abrevierea nu are nimic de-a face cu aluminiul! - deși aceasta ajută la reținerea ei). Fragmentele de ADN poartă secvența recunoscută de enzima **Alu**, care o scindează și permite astfel identificarea elementelor. Elementele **Alu** pot sări numai dacă împrumută transcriptaza inversă, la fel ca elementele SINE. ARN-urile acestor elemente contribuie la ARN-urile reglatoare din genomul uman. Aici, reglarea este locală, nu pe termen lung. Iar

oamenii au cel mai mare număr de elemente SINE/Alu. Cu toate acestea, niciun animal viu nu este atât de bogat în elemente SINE precum ornitorincul australian - şi nimeni nu ştie de ce!

Nimeni nu înţelege de ce aproximativ 50% din genomul nostru conţine elemente de tip retrovirus. Ar fi putut fi alcătuit în întregime din elemente de tip retrovirus, până la 100% şi nu doar 50%? Poate că observăm doar secvenţe virale din cei 50%, iar restul nu mai sunt recognoscibile ca viruşi şi au dispărut în „zgomotul" genetic.

În plus, 50% nu este o limită, ci o valoare statistică de mijloc. Unele gene umane sunt formate din 80-85% retroelemente, după cum a arătat Felix Broecker, care a analizat o astfel de genă (inhibitorul beta al protein kinazei, care inhibă kinaza PKB/AKT). Retroelementele nu sunt dispuse liniar: în schimb, ele se suprapun, se pot integra unele în altele. Pasul de la 90% la 100% este încă unul uriaş, dar nu este un obstacol fundamental. Prin urmare, aş dori să întreb: genomul nostru a fost cândva 100 % viral? Există o limită superioară a numărului de gene săritoare care ar putea exista? Dacă presupunem că au existat 1,5 milioane de elemente transpozabile, fiecare cu o lungime de 10 000 de nucleotide - ceea ce corespunde dimensiunii unui retrovirus din zilele noastre - atunci lungimea totală ar depăşi dimensiunea întregului nostru genom de cinci ori. Poate că „viruşii" nu erau toţi acolo în acelaşi timp şi nu erau de lungime completă.

Genomul nostru a fost compus cândva numai din elemente retrovirale? Este ceea ce bănuiesc - dar nu pot dovedi, şi sunt sigur că unii colegi se vor îndoi. Cu toate acestea, un coleg căruia i-am menţionat această idee a discutat-o imediat în următoarea sa intervenţie: Luis Villarreal, un pionier şi unul dintre primii care au subliniat rolul viruşilor la începutul vieţii şi în timpul evoluţiei timpurii. Viruşii ar fi furnizat suficiente informaţii pentru a ne construi genomurile. Există mai multe informaţii în secvenţele virale decât cele utilizate de toate creaturile vii la un loc. Mi se pare uşor să îmi imaginez că retroelementele sunt precursorii retrovirusurilor sau ai retrovirusurilor trunchiate şi că ne-au construit genomurile. Mi-e greu să întorc argumentul colegilor conform căruia viruşii sunt sateliţi care au scăpat din celule. De unde provin celulele? Despre ce a fost înainte de retrovirusuri se va discuta în secţiunea despre ARN - viroizi sau ribozime (a se vedea capitolele 8 şi 12).

Retrovirusurile endogene nu pot fi urmărite mai departe de aproximativ 100 de milioane de ani. „Hominizii" au existat cu aproximativ 200.000 de ani în urmă. Mult mai veche este Lucy. Ea este probabil cea mai bătrână mamă a noastră şi a trăit în Etiopia acum aproximativ 3 milioane de ani. Avea 1,10 m înălţime şi braţele îi ajungeau până sub genunchi, dar mergea în picioare pe două picioare. Acest lucru contează pentru a fi ruda noastră - dar viaţa a început acum 3,9 miliarde de ani. Ce s-a întâmplat între timp? Diferenţa este uriaşă. Nu există niciun motiv să credem că între timp nu au existat retrovirusuri sau rude ale acestora care să umple genomurile bacteriilor, *arhaea*, plantelor, animalelor şi oamenilor. Chiar şi în hidra, ornitorincul, drojdie, mica floare sălbatică *Arabidopsis thaliana*, peste tot putem găsi compoziţii genetice similare. Oriunde înseamnă pur şi simplu în toate eucariotele. Calculatoarele eşuează cu programele lor de căutare şi nu pot corecta un text cu prea multe modificări. Phoenix, un retrovirus reconstituit din genomul nostru, datează de acum 35 de milioane de ani.

Freeman Dyson, căruia am încercat să-i explic că eu cred că viruşii ne-au construit, că viruşii nu ne îmbolnăvesc, ci ne fac sănătoşi, că viruşii ar putea fi cei mai vechi strămoşi ai noştri, a ascultat, stând în biroul său de la Institute for Advanced Study din Princeton, cu cărţi stivuite de la podea până la tavan, şi a râs de discursul meu. A fost imediat interesat: cu cât argumentele sunt mai neaşteptate şi mai contradictorii, cu atât îi place mai mult să le discute. „Notează asta cu orice preţ", a spus el în germană. El vorbeşte bine germana, dar o ascunde. Mă încurajează - chiar dacă eu cred că de multe ori are o părere diferită de a mea. La urma urmei, el este autorul unei cărţi cu titlul: *The Scientist as Rebel* (Omul de ştiinţă ca rebel).

Următorul grup de elemente transpozabile sunt transpozonii ADN. Acestea nu sunt considerate a fi înrudite cu retrovirusurile, sau cel puţin aşa ni se spune în manuale. Chiar nu? Poate că sunt înrudite până la urmă! Le lipseşte o transcriptază inversă reală, RT, acesta a fost argumentul, dar enzima lor, transpoza, este strâns legată de RT. Transpozonii ADN urmează mecanismul „taie şi

lipește"; ei clivează și lipesc cu o nuclează și o integază care sunt înrudite cu RNaza H și integaza retrovirale. Iată deci legăturile de rudenie.

Transpozonii ADN sar în plante și în alte organisme, dar nu și la om, unde nu mai sar. Transpozonii ADN sunt fosile rari în genomul uman, reprezentând doar aproximativ 3%, corespunzând la 300 000 de copii. Ele sunt însă inactive. Transpozonii ADN sunt frecvenți în multe plante la aproape 50%, la porumb la 85% din genomul respectiv. Raportul dintre ADN și retrotranspozoni variază foarte mult, multe plante având și mulți retrotranspozoni. Transpozonii ADN nu se multiplică, ci doar schimbă locul de integrare, fără a-și dubla și crește numărul de copii. Dar unii transpozoni se pot și replica. Acest lucru nu este bine cunoscut, dar este important din cauza numeroaselor duplicări de gene care rezultă.

Pornirea și aterizarea transpozonilor înainte și după salt doare! Poate provoca leziuni, defecte genetice în genom. Dar acestea pot fi probabil utile ca toxice pentru celulă. Celula poate pierde sau poate învăța ceva nou. Astfel, interacțiunea cu celula trebuie să fie optimizată: prea multe salturi destabilizează genomul, iar celula va muri. Pe de altă parte, un salt insuficient nu este suficient de informativ și inovator pentru celulă, iar aceasta poate, de asemenea, să moară. În eucariotul drojdie, cercetătorii au reușit să determine frecvența saltului. Un transpozon Ty-1 din drojdie sare într-o celulă din 20 000 de ori. Saltul unui transpozon ADN cu „*cut-and-paste*" poate fi inovator din cauza mutageniei inserționale, a evenimentelor genotoxice menționate mai sus, care pot duce la cancer, precum și la producerea de genii. Ele sunt de două ori mai „periculoase" sau „utile" - adică inovatoare - decât retrotranspozonii. Astfel, ADN-transpozonii sunt probabil cea mai importantă forță care determină genomurile să se adapteze la condiții noi. Acest lucru poate fi cel mai important pentru organismele care, altfel, au puține variații. Acest lucru poate fi valabil în special pentru unele plante sau chiar copaci. Aceștia nu se pot mișca, nu pot fugi, pur și simplu rămân acolo unde sunt pentru o viață întreagă - până la 9500 de ani, vârsta celui mai bătrân copac despre care știm. Ele sunt vizitate de insecte, gândaci, păsări, ciuperci etc. care le pot transmite informații noi. Poate nu suficiente informații noi, deoarece plantele au cel mai mare număr de ADN-transpozoni activi. Recent a fost descrisă o plantă otrăvitoare, *Paris japónica*, cu 150 de miliarde de perechi de baze, adică de 50 de ori mai mult decât genomul uman și cel mai mare genom gigant cunoscut, depășind lalelele - pun pariu că are cel mai mare număr de ADN-transpozoni.

În schimb, drojdia (*S. cerevisiae* sau *S. pombe*) nu are transpozoni ADN (dar are mulți retrotranspozoni). Mi se pare enigmatic de ce două tipuri de *amoebe* variază extrem de mult, una dintre ele conținând aproape numai retrotranspozoni (*Entamoeba* (E.) *histolytica*), iar alta aproape numai transpozoni ADN (*E. invadens*). Astfel, este dificil să se găsească reguli cu privire la raporturile dintre diferitele elemente transpozabile. Transpozonii sunt foarte activi nu numai la plante, ci și la muște, unde s-au specializat în a sări la capetele cromozomilor ca protecție împotriva eroziunii în timpul diviziunii celulare. Ele sunt astfel rude sau precursori ai telomerazelor (într-adevăr, au structuri similare), care ne alungesc capetele cromozomiale în timpul embriogenezei. În timpul diviziunii celulare, ele ne protejează genomul împotriva ștergerii informațiilor esențiale.

Acum apare o surpriză: transpozonii au generat sistemul nostru imunitar. Cum? Transpozonii apără o celulă împotriva transpozonilor înrudiți. Aceasta se numește apărare antiviralăși este sistemul nostru imunitar, care apără o celulă. Mecanismul este simplu: orice virus (inclusiv transpozonii) împiedică un virus similar să intre într-o celulă. Acest lucru garantează replicarea cu succes a virusului și o progenie ridicată în cadrul resurselor limitate ale unei celule. Astfel, apărarea unei celule prin monopolul unui virus este în beneficiul replicării virale. Virusurile au construit un sistem de apărare antiviral, care în cele din urmă a devenit un sistem imunitar general al celulei gazdă. Virusurile au „învățat" celulele cum să țină virușii la distanță. Sistemul imunitar este îndreptat împotriva „inventatorilor" sau inițiatorilor săi printr-un mecanism simplu de feedback negativ.

Nu numai celulele eucariote, ci și celulele bacteriene se apără împotriva numărului prea mare de transpozoni. Transpozonii trebuie să fie inactivați în timp, iar celulele trebuie să acumuleze mutații inactivante pentru menținerea achizițiilor genetice reușite. Trebuie subliniat faptul că există

mecanisme de apărare ale celulelor împotriva elementelor transpozabile, deoarece prea multe salturi pot face rău. Saltul este contracarat prin mecanisme de „silențiere” (a se vedea cap. 9).

Porumbul „doamnei Mendel”

Geneticianul Barbara McClintock a studiat boabele de porumb și a fost surprinsă de toate culorile lor diferite. Legile moștenirii genelor, propovăduite de Gregor Mendel, au eșuat atunci când ea a analizat culorile porumbului indian. Nu le-a putut explica. Acest lucru a condus-o la descoperirea genelor săritoare, transpozonii, în anii 1940. Ea a răsturnat un concept universal acceptat cu privire la stabilitatea materialului nostru genetic, chiar înainte ca dublul helix al ADN-ului să fie descoperit în 1953. Ea a descoperit instabilități în ADN-ul porumbului și le-a atribuit genelor săritoare, care au influențat culorile. Încă din 1944 -1945, ea a observat fenomenul genelor mobile din cromozomii celulelor, care provocau mutații și schimbări de culoare la porumbul indian. Când a raportat acest lucru comunității științifice în 1951, s-a confruntat nu numai cu o lipsă totală de înțelegere, ci chiar cu ostilitate și respingere. Rezultatele ei au fost considerate eretice. Era cu 50 de ani înaintea timpului ei.

Genele săritoare, sau transpozonii ADN, au fost apoi observate în următorii 20 de ani peste tot - în drojdie, în bacterii, în toate speciile vii - inclusiv la om, deși într-un mod puțin mai complex. Retrotranspozonii domină în genomurile noastre, în timp ce transpozonii ADN au devenit inactivi la oameni cu mult timp în urmă.

Se pot „vedea” genele care sar - în mod surprinzător - dar numai dacă acestea afectează genele de culoare.

Transpozonii ADN pot sări în vecinătatea genelor de culoare și să le schimbe reglarea, pe care McClintock le-a definit ca „gene de control”. Alți oameni au crezut că agenții patogeni sunt cauza schimbărilor de culoare. Într-adevăr, acest lucru este de asemenea adevărat, virușii au cauzat tulipomania (a se vedea cap. 8). Salturile pot avea loc oriunde, dar, dacă se caută, se pot detecta doar modificări în reglarea genelor de culoare. Rareori se pot vedea cu ochiul liber mecanisme atât de complexe. Totuși, a fost nevoie de o Barbara McClintock pentru a rezolva mecanismul - cel puțin în parte, deoarece mecanismul nu este încă pe deplin înțeles. În timpul reuniunilor din 2015, fotografia ei a fost prezentată în mod repetat.

Barbara McClintock a descoperit fenomenul „epigenetic”, dincolo de genetică, deoarece explicarea culorilor porumbului prin legile genetice ale lui Gregor Mendel a eșuat. Pentru descoperirea genelor săritoare, McClintock ar putea fi numită „doamna Mendel”, așa că trebuie să evaluăm importanța descoperirii sale. Astăzi știm că epigenetica se bazează pe modificări chimice ale ADN-ului sau ale proteinelor care împachetează ADN-ul, care dereglează apoi expresia genelor. Efectul se datorează schimbărilor de mediu și, în mod normal, nu este moștenit. Până în prezent sunt cunoscute două mecanisme majore, determinate de modificări chimice, cum ar fi atașarea de grupări metil la ADN sau modificări ale proteinelor histone (cromatină) prin acetilare. Metilarea unui promotor - care este „gena de control” prezisă de ea - oprește expresia genei.

McClintock nu a fost înțeleasă, dar, din fericire, nu a fost lăsată pe dinafară. Ea a ratat un prim Premiu Nobel. Ea a contribuit semnificativ la înțelegerea regiunilor de control, nu numai la porumb, ci și la bacterii. Așa-numitul „model operon” în bacterii a fost onorat cu un Premiu Nobel în 1965, care a revenit celor doi colegi francezi din Paris, Francois Jacob și Jacques Monod. Ea a fost cel puțin un inspirator mental.

McClintock a trebuit să treacă prin experiența amară a respingerii lucrărilor sale științifice. Așa că a renunțat să mai publice. În mod normal, acesta ar fi fost sfârșitul unei cariere - cel puțin în știință. Dar liderii Laboratorului Cold Spring Harbor, Fred Hershey și mai târziu Jim Watson, au observat și probabil au prevăzut importanța cercetărilor ei. Ea a primit un laborator permanent. Acolo a rămas până la sfârșitul vieții sale. Biroul ei era plin de hârtii, stivuite până la tavan. Dacă veneau vizitatori, ea nu era neprietenoasă, dar nu era deloc comunicativă. Vizitatorii trebuiau să ridice în permanență noi întrebări sau subiecte - pentru că altfel conversația se stingea repede. Ea nu spunea aproape nimic și era prietenoasă, dar ușurată, când vizitatorul pleca. În 1983 a primit

Premiul Nobel „pentru descoperirea elementelor genetice mobile”, descoperirea genelor săritoare. Oamenii au început să înțeleagă implicațiile rezultatelor ei și pentru viruși și celule canceroase. A fost a treia femeie care a primit premiul și una dintre puținele laureate care nu l-a împărțit cu alții - l-a primit singură.

Avea atunci 81 de ani. Nimeni nu a stat vreodată cu ea în mașină, spunea ea într-un interviu, atât de singuratică - sau autistă? - era ea. La scurt timp după cea de-a 90-a aniversare a murit. Locuia într-una dintre casele albe din lemn care provin, probabil, de pe vremea vânătorilor de balene, care veneau la Cold Spring Harbor pentru a obține apă proaspătă. Deasupra apartamentului ei din Hooper House se aflau câteva camere de oaspeți pentru participanții la reuniuni, spartane ca niște celule monahale. Acestea au fost întotdeauna adresa mea preferată în timpul simpozioanelor. În aceste camere mici, timpul părea să se oprească; ușa unei toalete avea o încuietoare defectă și ocupantul era obligat să țină ușa închisă din interior cu un picior - timp de decenii! Totul era simplu. Unele camere permiteau o privelişte spre gâștele canadiene și portul cu mareele sale schimbătoare. Dimineața, McClintock traversa peluza udă, cu șosete groase în picioare. Așa ne-am putea imagina ascensiunea spre Olimp sau obiectivul pelerinilor cu *spiritus loci* al unui geniu. Este interesant că McClintock nu ar fi putut descoperi fenomenul genelor săritoare în genomul uman - deoarece nu mai există sărituri, cel puțin nu în modul în care transpozonii ADN sar în porumb. Plantele au genomul cel mai mobil, iar porumbul era ideal, cu boabele sale colorate. Porumbul este încă plin de surprize, deoarece poate pierde o treime sau jumătate din genele sale dintr-o lovitură. Genomul porumbului este la fel de mare ca cel al omului, iar 85% din el este format din transpozoni ADN, în timp ce genomul uman are doar 3% transpozoni, toți inactivi. Mecanismul „taie și lipește” al transpozonilor a fost analizat de McClintock nu numai la porumb, ci și la bacterii cu ajutorul fagilor, unde genele sar din genomul fagului în genomul bacterian, rapid înainte și înapoi, ca niște mingi de ping-pong. Acest mic fag flexibil se numește **Mu**, deoarece *mu*-tează genomul gazdelor sale. Exploatarea **Mu** ca model mai rapid pentru studierea și înțelegerea elementelor mobile a fost o altă lovitură de geniu a lui McClintock.

Nu faimosul porumb, ci buruiana de câmp *Arabidopsis thaliana*, aproape neobservată și cu aspect plictisitor, a fost selectată prima pentru secvențierea întregului genom al unei plante, deoarece genomul său are doar 130 de milioane de perechi de baze, ceea ce este puțin comparativ cu cel al porumbului sau al grâului. Numărul genelor săritoare și al repetițiilor este la fel de mic, ceea ce facilitează secvențierea. Poate că frecvența scăzută a săriturilor explică genomul mic sau nimeni nu a avut grijă să o cultive?

Instrumentele necesare lui **Mu** pentru salt se aseamănă cu cele ale retrovirușilor, în special integraza. Fagii **Mu** se integrează întotdeauna, la fel ca retrovirusurile - spre deosebire de alți fagi care nu se integrează în faza *lită*, ceea ce **Mu** face însă. Merck Co. a fost cea care a exploatat integraza fagului **Mu** într-un test de mare capacitate pentru depistarea posibililor inhibitori ai integrazei HIV. **Mu** ca model de integrare a ADN-ului retroviral într-un genom bacterian care înlocuiește HIV! Nu-mi venea să cred! Viteza a fost un avantaj major și nu a fost însoțită de nicio cerință de siguranță a laboratorului. Într-adevăr, a dus la obținerea unuia dintre cei mai buni inhibitori ai HIV-integrase relevanți clinic, medicamentul Raltegravir. Asemănarea extrem de surprinzătoare dintre fagul **Mu** care sare în bacterii și genele care sar în porumb - până la retrovirusuri precum HIV - indică un grad uluitor de conservare evolutivă: de la un fag în bacterii la porumb și la HIV la om! Și eu sunt surprins de acest lucru. De asemenea, i-am admirat pe cercetătorii de la Merck Co, care au avut această idee palpitantă, una care a dus într-adevăr la un mare succes terapeutic. Nu există o asemănare mai convingătoare decât aceasta, între un retrovirus și un fag, HIV și **Mu**. O altă surpriză a fost faptul că **Mu** ar putea servi și ca model pentru terapia genică, și anume pentru mecanismul prin care o genă străină poate fi integrată în celulele germinale: printr-o tăietură eșalonată (o treaptă cu capete dinucleotidice suprapuse), care trebuie să fie umplută de gena străină. Procesele de integrare ale fagului **Mu** și ale retrovirusurilor se aseamănă până la cele mai mici detalii și au fost studiate în sistemul **Mu**, mai puțin periculos și mai rapid.

Aproape în același timp cu descoperirea epigeneticii de către McClintocks, un alt fenomen a fost detectat la porumb: în 1956, R. Alexander Brink, un genetician canadian, a observat și el o

moștenire total inexplicabilă, modele surprinzătoare și cu culorile boabelor de porumb. Aceasta a durat mai mult de o generație, fără a respecta regulile mutațiilor, așa că a numit-o „para-mutație”, genetică fără gene! Care a rămas aproape neobservată, chiar și până astăzi. Ea conduce la moștenirea proprietăților dobândite, inclusiv a învățării - un subiect care a inspirat cândva discuții politice. Din nou, acest fenomen nu implică modificări genetice directe ale genelor - dar, spre deosebire de modificările epigenetice, acestea sunt de lungă durată: sunt menținute de-a lungul mai multor generații. Acum oamenii de știință încep să își amintească, analizând moștenirea surprinzătoare a schimbărilor fără mutații. Aceasta a primit un nume: moștenirea transgenerațională. Au luat alerta de la observația că tații grași au nepoți grași, valabil și pentru mamele grase și nepoatele grase - citiți în continuare de ce! Ridic secretul: entitățile moștenite sunt regulatori speciali, numiți piRNA și transmise în spermă! Aceasta este o perspectivă viitoare și va fi discutată în capitolul următor și la final (cap. 12).

În fața sălii de curs din laboratorul Cold Spring Harbor, există o mică cutie de sticlă în memoria lui McClintock: mi-a dat impresia stilului ei de viață minimalist - aproape de sărăcie: o pereche de pensete, o spic de porumb grizonat, o carte poștală, ochelarii ei... aproape nimic. Caietele ei sunt în bibliotecă. Probabil că ar fi apreciat expunerea modestă. Gândirea ei este cea care supraviețuiește, nu aceste bunătăți. Este uimitor ce se poate vedea uitându-se la boabele de porumb. O privire la farfuria mea de tablă cu spice de porumb colorate - un cadou de la un prieten, cumpărat la piața săptămânală a fermierilor din Graz, Austria - îmi amintește de genele săritoare ale lui McClintock. Toate acestea sunt la un loc: transpozoni, retrotranspozoni, retrovirusuri până la apărarea antivirală și sistemele imunitare. Aceste povești de miliarde de ani ne sunt spuse de câteva sâmburi colorați. Toată lumea ar trebui să păstreze acasă câțiva dintre acești frumoși martori ai istoriei vieții - porumbul colorat de la Graz, desigur, și nu chestia galbenă dintr-o cutie de conserve din industria alimentară unde nu se vede nimic!

Orice cititor care a ajuns până la această frază ar trebui să-mi scrie și să-mi spună dacă a găsit vreo greșeală, dacă crede că ceva trebuie schimbat sau corectat: va primi apoi un exemplar gratuit al cărții cu dedicația mea.

Jucării otrăvitoare și epigenetică la șoarecii Agouti

Mame tinere, vă rog să fiți atente: Șoarecii colorați pot identifica manechinele periculoase pentru copii. Acest lucru este echivalent cu porumbul colorat la șoareci. Șoarecii nu sunt la fel de colorați ca porumbul, dar sunt și ei colorați, iar culoarea este un indicator: șoarecii normali sunt negri și sănătoși, în timp ce șoarecii bolnavi sunt galbeni și grași. Șoarecii negri suprimă bolile și obezitatea, diabetul și chiar unele tumori. Acesta este motivul pentru care sunt folosiți ca modele vii de testare pentru diverse influențe ale mediului. Șoarecii sunt numiți șoareci Agouti după numele genei de culoare Agouti. Privind cei doi șoareci, care par total diferiți, unul galben și gras, iar celălalt negru și slab, nu poți crede că sunt într-adevăr gemeni identici cu gene identice. Epigenetica este explicația.

Ele diferă prin efecte epigenetice, ceea ce înseamnă prin modificări tranzitorii dobândite ale ADN-ului lor și nu prin mutații în ADN. Modificările epigenetice au loc prin intermediul factorilor de mediu. În acest caz, agenții cancerigeni pot duce la modificări chimice ale genelor de culoare prin metilarea promotorului ADN și/sau acetilarea histonelor. Astfel, genele sunt nou reglementate, ceea ce se poate observa, șoarecii cu gene de culoare normală devenind galbeni, în timp ce genele de culoare modificate duc la blană neagră. Modificările intermediare duc la culori maro. Acum aș dori să atrag atenția tinerelor mame: dacă se hrănesc șoarecii Agouti cu substanțe cancerigene precum bisfenolul A, care este prezent în multe jucării pentru copii, în păpuși sau în biberoane din plastic din Orientul Îndepărtat, atunci următoarea generație de șoareci va fi de culoare galbenă din cauza activării genei de culoare Agouti. Acest lucru indică „pericol”! Șoarecii Agouti sunt șoareci-test sau biosenzori ai modificărilor de mediu, cum ar fi substanțele cancerigene și toxinele, dar și praful fin, substanțele chimice, factorii psihologici sau pur și simplu vârsta, toate acestea putând duce la o culoare galbenă. Hrănind șoarecele mamă galben cu un al doilea compus în plus, cum ar fi

vitamina B12 sau acid folic, progenitura șoarecilor revine la „negru și sănătos”. Un factor nutrițional sau de mediu poate neutraliza un altul. Aici, momentul și stadiul de dezvoltare sunt, de asemenea, relevante, dar principiul este surprinzător. Cu toate acestea, nu aș recomanda vitaminele ca hrană pentru copii pentru a contracara efectele jucăriilor toxice; mai degrabă, cumpărați jucării mai puțin toxice!

Cum pot otrăvurile să provoace schimbări de culoare? Răspunsul vine dintr-un domeniu de cercetare complet nou și este un proces în mai multe etape: toxinele conduc la ARN mic reglator, un metilator (ADN metiltransferază ARN-dependentă) care apoi metilează ADN-ul și reglează genele de culoare.

McClintock a arătat că genele (sau ARN-ul) care sar pot induce modificări epigenetice și boabe de porumb multicolore. Șoarecii cu culori schimbătoare nu îi erau încă cunoscuți. Este posibil să fi fost surprinsă de asemănările dintre porumb și șoareci. Totuși, principiul este similar: modificările epigenetice ale genelor de control reglează apariția noilor culori. Când ieșiți la plimbare, este posibil să observați câini și pisici cu vârfuri albe pe urechi, sau în partea inferioară a piciorului, sau cu degete albe. Caii pot prezenta, de asemenea, regiuni albe și Kois cu modele de culori. Ele sunt frecvente - această carte este plină de ele!

Dar veți fi surprinși să citiți mai târziu la sfârșitul cărții - că unele dintre ele se datorează „parageneticii”.

Interesant este faptul că o moleculă ARN poate neutraliza efectul alteia, astfel încât doi nutrienți sau chiar două otrăvuri se pot anula reciproc. Ce legătură au toate acestea cu virușii? Genele săritoare, transpozonii sau retro-transpozonii sunt legate de virusuri și afectează genele de control, promotorii și, astfel, culorile. Transpozonii sunt ca niște viruși blocați, care nu pot părăsi o celulă, întemnițați în celulă pentru că nu au o haină în care să se deplaseze în exterior.

Frumusețea este că vârfurile albe ale urechilor sau ale picioarelor sunt indicatori ai unor mecanisme epigenetice complicate, modificări de mediu ale genelor. Nu știu dacă urmașii câinelui sau calului dumneavoastră vor avea și ei urechile cu vârful alb - dacă da, atunci este posibil ca modificările epigenetice trecătoare să fi fost transformate în mutații permanente de vreun crescător ambițios!

Frumoasa adormită, peștele antic, ornitorincul și kois

Urmează câteva exemple despre ceea ce fac transpozonii în diferite specii. Din nou, a avut loc învierea unui cadavru: un transposon din somon, cu numele potrivit „marinar”, a fost revitalizat dintr-un transposon fosil inactiv și a fost numit „frumoasa adormită” (SB), după figura din basmul fraților Grimm. Acesta a fost reactivat printr-o procedură similară celei descrise mai sus pentru Phoenix, retrovirusul reactivat, care a redevenit infecțios după 35 de milioane de ani de „adormire”. Această frumusețe adormită a dormit timp de peste 10 milioane de ani. Apoi cercetătorii au venit să îl trezească. Din nou, codonii de oprire au fost înlocuiți în laborator, iar transpozonul a fost reparat astfel încât să poată sări din nou. Transposonul SB de somon a fost selectat ca molecula anului în 2009 în SUA de către o Societate Internațională de Biologie Moleculară și Celulară, ceea ce i-a conferit o reputație destul de mare. Acum, toată lumea așteaptă succesul acestui transposon în terapia genică fără (sau mai puțin?) efecte secundare, deoarece nu se integrează așa cum o fac retrovirusurile. Într-adevăr, există unele progrese în 2016, transpozonul a fost utilizat pentru a crea o vacă verde, chiar mai surprinzător, o vacă verde cu ochi roșii strălucitori, iar acum oamenii vor obține transgeni sau gene terapeutice, nu gene de culoare, pentru a vindeca bolile oculare. Așteptați și veți vedea.

Un animal exotic plin de gene săritoare este *African coelacanths*, un pește la fel de lung ca o masă. Mult timp, a fost considerat dispărut, până când directorul unui muzeu din Africa de Sud a recunoscut unul printre capturile dintr-o plasă. De atunci au fost întâlniți aproximativ o duzină de exemplare. Imaginea sa a decorat prima copertă a revistei *Nature* în 2013. *Coelacanții* există de 40 de milioane de ani și sunt considerați a fi cei mai vechi pești vii - fosile vii. Peștele crește foarte încet, cu o creștere în lungime aproape incomensurabilă pe parcursul a 20 de ani, și trăiește mai

mult de 100 de ani. Acest lucru poate fi determinat de organele sale speciale pentru echilibru, aproape ca „inelele copacilor”. Genomul *celacanților* are o lungime de 2,9 miliarde de perechi de baze, ceea ce este neașteptat de mare, și este plin de secvențe repetitive, care sunt amplificate (până la 60%) fără prea multă diversificare. Axel Meyer din Konstanz, specialist în pești *cichlide* (*tilapia*) din Lacul Victoria din Africa, este coautor al analizei genomului acestui pește străvechi. Nici măcar el nu știe de ce genomul acestui pește este atât de constant. Nu a avut dușmani naturali? Peștele este deosebit de interesant deoarece poate înota și alerga, ceea ce ar trebui să fie detectabil în genele sale. Aș dori să adaug acest pește, cu atât de mulți viruși de tip fosil, la colecția mea de curiozități, la Wunderkammer-ul[1] meu de creaturi ciudate.

Un alt animal exotic este ornitorincul, un animal cu aspect neobișnuit din Australia care este pe cale de dispariție. Genomul său a fost complet secvențiat de colegii de la Institutul Max Planck de Genetică Moleculară din Berlin, care au descoperit că 50% din genomul ornitorincului este alcătuit din elemente transpozabile, dintre care unele sunt foarte repetitive, și există cantități extrem de mari de SINE-uri, care trebuie să se fi multiplicat semnificativ. Niciun alt organism nu are atât de multe SINE-uri. Motivele pentru toate acestea nu sunt cunoscute, ornitorincul este la jumătatea distanței dintre păsări și mamifere - are picioarele plate, cioc de rață, blană groasă și o coadă uriașă în care poate depozita grăsime; depune ouă și produce lapte. Masculul poate pulveriza venin de melc. Acesta poate fi datat cu aproximativ 100 de milioane de ani în urmă. Este la fel de ciudat ca SF-ul. Genomul său este un amestec din diverse specii.

Apoi sunt niște pești, kois, care au murit brusc în crescătoriile de pești. Kois sunt pești ornamentali japonezi care sunt expediați în întreaga lume pentru a servi drept decor în iazurile de exterior. Acești pești sunt *crapi* cu caracter simbolic, o versiune japoneză a vacilor sfinte din India. Creșterea acestor pești speciali, cu modelele lor colorate, are o tradiție îndelungată. Poate că un cititor atent se întreabă deja dacă culorile sunt cauzate de gene săritoare, la fel ca culorile bobului de porumb. Eu bănuiesc acest lucru, deoarece piscicultorii au probleme cu culorile care se schimbă constant de la o generație la alta și care nu sunt moștenite corect. Acest lucru îmi sună cunoscut - pare să amintească în mod suspect de efectele observate la șoarecii de porumb și la șoarecii Agouti - și la lalelele cu dungi (a se vedea capitolul 8): prin modificări epigenetice?

De ce au murit kois dintr-o dată? Au murit din cauza herpesvirusului *koi*. Densitatea populației a fost prea mare? Un pește nou venit a adus un virus și i-a contaminat pe ceilalți? Nu, oamenii au schimbat mediul; au îndreptat marginile lacului și au eliminat scările pentru pești, astfel încât peștii să nu poată înota în amonte și să depună ouă. Stres pentru *koi*! Acest lucru le-a afectat sistemul imunitar și a dus la activarea herpesvirușilor. În Germania, scările pentru somoni au devenit obligatorii acum, astfel încât peștii să poată sări în amonte. Și crapii noștri au obiceiuri și probleme similare. Și se știe că stresul activează herpesvirușii de pe buzele noastre și provoacă răceală - același fenomen. Stresul de mediu acționează asupra virușilor reali și asupra epigeneticii.

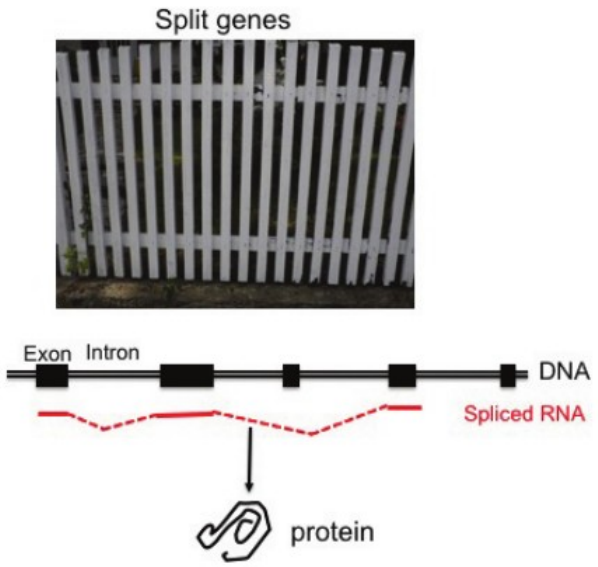
Un gard cu spații goale

Cât de surprinzător: doar două procente din genomul nostru codifică proteine. Ce se întâmplă cu restul, celelalte 98%? Se garantează că nimic nu merge prost cu cei 2% care conțin proteine. NcRNA-urile reglatoare sau necodificatoare provin din cele 98%. De ani de zile, omul de știință australian John Mattick a subliniat importanța acestui tip de ncARN-uri. Mattick a arătat anterior, pe un grafic dintr-un articol din *Scientific American*, cum crește cantitatea de ARN reglator în organismele superioare - de la bacterii, organisme unicelulare, ciuperci, plante, vertebrate - de la zero la aproximativ 98% din ARN-ul total. Noi ne situăm în top. De ce există atât de mult mai mult ARNnc la animalele cu o complexitate mai mare? Răspunsul este simplu: pentru a permite o complexitate mai mare.

ADN-ul nostru genomic codifică în total 20.000 de gene. Cu toate acestea, suntem depășiți, poate surprinzător, de banane, care au aproximativ 35 000 de gene, în timp ce porumbul are până la 50 000 de gene, la fel ca grâul și lalelele. În cazul grâului, au fost identificați trei cromozomi care

1 Camera Minunilor

sunt înrudiți între ei, părând a fi la mijloc un fel de procedură de multiplicare. Făina de grâu cu doar unul dintre cei trei cromozomi s-a dovedit a fi neplăcută în pâine și greu de copt. Este posibil ca genomurile gigantice să apară ca o consecință a înmulțirii și cultivării îndelungate de către oameni. Chiar dacă există și excepții.



Genele sunt ca un gard care corespunde exonilor și intronilor din ADN, combinațiile de ARN ale exonilor (prin despicarea intronilor) conduc la diferite proteine prin combinații.

Floarea de câmp *Arabidopsis thaliana* are 28.000 de gene - probabil că nimeni nu a fost vreodată interesat de cultivarea acestei buruieni „inutile". Așa că genomul său a rămas mic. Apoi vine viermele *C. elegans* cu 23.000 de gene. În ceea ce privește numărul de gene, oamenii nu se află în top. Cu cele 20 000 de gene ale noastre, avem chiar mai puține decât planta de câmp cu aspect dezolant *Arabidopsis thaliana*, chiar mai puține decât *amibele*.

Numărul de gene la maimuțe și șoareci este similar cu al nostru. Acest lucru pare arbitrar. Cu siguranță, numărul de gene nu se corelează deloc cu inteligența! O dispută publică a ridicat întrebarea enigmatică: De ce oamenii au atât de puține gene? Genele noastre nu sunt mai numeroase, dar sunt mai lungi. Toate celelalte specii au gene mai scurte. Oamenii au cel mai lung ADN, cu o medie de 160 000 de perechi de baze pe genă. Astfel, porumbul, bananele și lalelele au mai multe gene decât noi, dar aceste gene sunt mai scurte și „mai puțin informative": orezul și porumbul au gene mai scurte de aproximativ o zecime sau o cincime din lungimea noastră, între 10 000 și 50 000 de perechi de baze pe genă. Genele bacteriene cuprind aproximativ 1400 de perechi de baze și mulți viruși au cel mai mic număr, aproximativ 1000 de perechi de baze pe genă. Numerele mici pentru genomurile virale merită reținute în contextul acestei cărți, deoarece există excepții, virușii giganți (cap. 6).

Iată o surpriză ciudată: există un brad scandinav care are un genom de șase ori mai mare decât al nostru și care este cel mai bătrân copac cunoscut de pe planeta noastră, în vârstă de 9500 de ani. Cu toate acestea, numărul de gene codante este la fel de mic ca cel al florii de câmp. Multe dintre genele sale sunt din nou repetitive, fără nimic nou. Oare o viață plictisitoare durează mai mult? Voi adăuga acest brad la colecția mea de curiozități.

Procese destul de eficiente de curățare a materialului genetic inutil au fost descrise la muște, unde oamenii de știință vorbesc chiar de „curățarea genetică a casei". Curățarea (ștergerea) genelor costă energie. Ce este mai ieftin sau mai rentabil: stocarea ADN-ului inutil într-un genom sau eliminarea acestuia? Este ADN-ul stocat echivalent cu ceea ce este adesea desemnat drept „ADN nedorit", ADN plin de secvențe necunoscute sau potențial lipsite de sens? Eliminarea ADN-ului redundant nu este bine înțeleasă.

Dacă mă gândesc la subsolul casei mele, unde ar trebui să fac curățenie urgent, prefer totuși să nu arunc nimic, deoarece costul de a păstra totul nu este atât de mare. Nu știu la ce poate fi util

gunoiul într-o zi. Perdelele au fost folosite pentru a face rochii în timpul războiului, când era lipsă de orice. Poate că excesul de ADN devine util în perioadele de penurie, ca back-up. Curățarea ar fi mult mai greoaie.

La ce ar putea servi genele extrem de mari din genomul uman, dacă nu pentru informații care codifică proteine? Răspunsul este: pentru informații de reglementare, gestionare, administrare, combinare de bucăți de gene pentru a forma noi gene!

Genele mari sunt pline de *introni* care întrepătrund *exonii*, acestea fiind golurile dintre *exoni*. Mai sus, am folosit un gard ca model pentru *introni* și *exoni*, cu goluri și stâlpi. *Intronii* exprimă ARN necodificatori de reglementare sau ARNnc, care nu sunt pentru proteine, ci pentru reglarea proteinelor. Genele umane sunt formate în medie din șapte *exoni/introni*, *intronii* putând fi foarte lungi, de o sută de ori mai lungi decât *exonii*, ceea ce corespunde unui gard cu goluri mari (sau o poartă deschisă). Acum vine punctul important: *exonii* pot fi combinați prin *splicing* și pot genera complexitate, mai ales că genele noastre sunt cele mai mari. Asta face ca oamenii să fie mai complecși decât toate celelalte specii.

Când a fost descoperit ADN-ul, ideea era că o genă codifică o proteină și că până acolo s-a ajuns. Acest lucru este incorect pentru noi, oamenii - dar nu și pentru viruși, deoarece virușii nu au *introni*. În ciuda acestui fapt, ei pot efectua, de asemenea, *splicing*, dar numai prin combinarea unor noi zone de *exoni* - din nou, una dintre proprietățile minimaliste și economice ale virusurilor. Cu toate acestea, virușii au și ei nevoie de reglarea expresiei genelor. *Splicarea* a fost descoperită la viruși prin microscopie electronică, unde bucăți din genomul viral erau „vizibil” în buclă. *Splicarea* face posibilă exploatarea diferitelor cadre de lectură, un principiu care funcționează la toate nivelurile, de la viruși la noi. În cazul virușilor, cantitatea de ARNnc necodificator este minimă, aproape zero; în cazul bacteriilor este de aproximativ 10% (în unele rapoarte se poate găsi zero), în cazul drojdiei 30%, în cazul *C. elegans* 70%, în cazul muștelor 85%, iar în cazul șoarecilor și al oamenilor 98%. Se poate spune și invers: pentru viruși, informațiile care codifică proteinele reprezintă aproape 100%, iar pentru noi doar 2%. Astfel, se poate spune că 2% din genomul nostru este reglementat de celelalte 98%, corespunzând executivului și legislativului într-un sistem politic. (Executivul ne amintește corect de cuvântul *exoni*!). Asta înseamnă că avem un legislativ condus teribil de creier? Nu, este exact ca în politică. În Elveția, șapte persoane reprezintă executivul, iar 200 legislativul/reglementativul. Astfel, se pare că reglementarea noastră genetică corespunde proporțiilor din una dintre cele mai bune democrații din lume, cel puțin în viziunea elvețiană!

Legislativul - *intronii* definesc programele, coordonarea în timp și spațiu, programele de dezvoltare, diferențiere, specializare, creștere și moarte celulară (apoptoză), împreună cu adaptarea, răspunsul imun, inovarea și performanța maximă. În concluzie: legăturile combinatorii ale regiunilor genetice prin *splicing* fac oamenii speciali. Acesta este punctul nostru forte!

ENCODE pentru înțelegerea „ADN-ului junk”

Ce se întâmplă în cele 98% din genomul nostru uman? Două procente codifică pentru proteine, iar restul nu știam. Prin urmare, a fost inițiat un studiu de urmărire a Proiectului Genomului Uman, numit ENCODE (Enciclopedia elementelor ADN). Proiectul ENCODE își propune să afle ce se întâmplă în „regiunile deșertului”, așa cum numesc autorii spațiile „goale” necunoscute necodante (nc) dintre regiunile codante. Doar două procente din ADN pot fi atribuite proteinelor. Cea mai mare parte a acestor 98% este exprimată sub formă de ARNnc necodificatoare, care pot fi atribuite unor funcții de reglementare pentru a organiza restul, expresia proteinelor. Regiunile „deșertice” conțin elemente de reglare pe distanțe scurte sau lungi, cum ar fi *enhanceri*, represori, *silenceri* cu și fără situsuri inactive și active, izolatori, promotori în proximitatea genelor, instrucțiuni privind prelucrarea (ceea ce înseamnă tăierea ARN-ului), modificări chimice cum ar fi metilarea ADN-ului și acetilarea cromatinei (probabil și fosforilarea și alte modificări) și transcriptele ARN ale genelor. Rolul „izolatorilor” este o descoperire recentă: aceștia fac ceea ce sugerează numele lor, blocând regiunile situate între promotor și un potențator. Modul în care fac acest lucru este încă neclar. Scopul este de a afla cum și când este activă o genă. De asemenea, se

vor efectua analize ale intensității semnalului (cât de activă este o genă), ale cantității exprimate, ale conservării evolutive. Acest lucru exclude din nou virușii, deoarece aceștia nu sunt conservați - astfel încât vor fi necesare cu siguranță mai multe cercetări.

Gestionarea recentă a unei cantități uriașe de date este susținută de astrofizică, menționată, de asemenea, de o analiză genomică olandeză. Imaginați-vă o grămadă de hârtie înaltă de 15 m, lungă de 35 km și acoperită doar cu cele patru litere A, G, T și C, într-o ordine pe care nimeni nu o înțelege încă, cuprinzând 15 terabytes (sau 15 000 gigabytes); acest lucru trebuie înțeles ca text și împărțit în propoziții, capitole, titluri sau paragrafe. Lungimea totală a genomului uman este de 3,2 x 10^9 nucleotide.

Mai mult de 2 500 de publicații încep să apară acum, la mulți ani după inițierea ENCODE în 2003. În mod surprinzător, unele dintre ele sunt enigmatice. Acestea descriu 70 000 de promotori, secvențele de început și regiunile de reglementare din fața genelor, deși avem doar 20 000 de gene. De ce există mult mai mulți promotori decât gene? De asemenea, au fost determinați 40 000 de potențatori, regiuni mai îndepărtate de o genă, cu efecte pe termen foarte lung dincolo de „limite”, regiuni fără proteine. În regiunile „deșertice”, unde se produce mult ARNnc reglator, se pare că apar mutații care generează boli. Au fost descoperite unele elemente de reglementare defectuoase care ar putea provoca boli. Dereglarea expresiei genelor înseamnă adesea cancer. Într-adevăr, bolile par să se bazeze pe regiunile necodificatoare.

Până în prezent, doar 10 % din ADN a fost analizat. Până la sfârșitul anului 2014, 440 de oameni de știință din 32 de grupuri care lucrau în conformitate cu protocoale standardizate cu 147 de tipuri de celule au efectuat 1 648 de experimente.

Așadar, există acum un răspuns concludent cu privire la cât de mult din ADN-ul nostru este *junk*? Nu, nu chiar. Regiunea „pustie” a ADN-ului s-a dovedit a fi 80 % activă din punct de vedere funcțional și 75 % din aceasta este transcrisă pe ARN, nu pentru a produce proteine, ci regulatori.

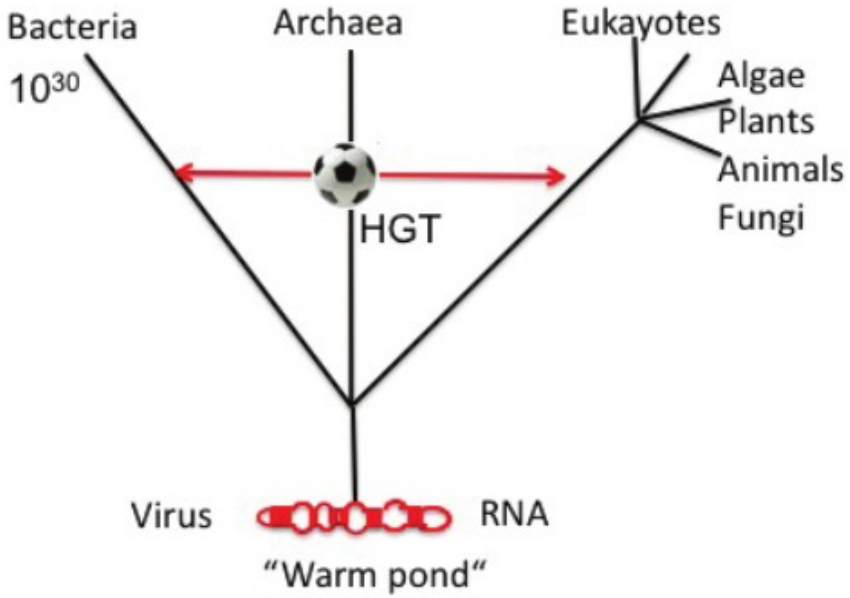
Prin urmare, cea mai mare parte a ADN-ului face ceva; mulți viruși sunt paralizați la ceea ce poate părea *junk*, dar adesea încă fac ceva, LTR-urile lor au fost menționate ca secvențe reziduale, promovând alte gene. Altele pot fi pe cale de dispariție, deci este posibil să existe într-adevăr niște *junk* în jur. Evoluția este continuă, nu se termină niciodată! Dacă cineva dorește să efectueze diagnostice genetice, atunci trebuie să ia în considerare faptul că două persoane „normale” diferă în genomul lor în proporție de 0,5 %, ceea ce înseamnă 16 milioane de perechi de baze diferite - acest număr a crescut recent de cinci ori - din totalul de 3,2 miliarde. Acesta este contextul în care trebuie definite secvențele asociate bolilor. Care dintre polimorfismele single-nucleotidice (SNP) indică boli și care nu înseamnă absolut nimic? Aceasta este provocarea de a afla. Pentru a depăși acest raport semnal/zgomot, trebuie dezvoltate noi tehnologii.

Poate că vor exista din nou unele scurtături pentru a găsi răspunsuri la toate sau la unele dintre aceste întrebări. Craig Venter a găsit modalități mai ieftine și mai rapide de a analiza genomul uman; el a scutit omenirea de zece ani de muncă și a redus costurile cu câteva ordine de mărime. Va reuși el sau altcineva să repete acest lucru cu proiectul ENCODE? Să sperăm că da. Toate datele care rezultă din acest proiect sunt disponibile publicului, iar recent au fost anunțate cursuri pentru instruirea oamenilor în utilizarea datelor. Oricine poate ajuta - dacă poate!

8. Virușii - cei mai vechi strămoși ai noștri?

La început a fost ARN

Viața a început nu cu Adam și Eva, nu în Paradis - cred eu - ci jos, în oceane, în jurul vulcanilor, unde era cald - mai mult ca în iad decât în rai. Există și o altă posibilitate dezbătută: gheața! Viața ar fi putut începe în canale fluide din interiorul gheții. Dacă cineva vrea să citeze Biblia, s-ar putea referi la prima frază din Evanghelia Sfântului Ioan: „La început era Cuvântul”. Și Johann Wolfgang Goethe a reflectat în *magnum opus*-ul său „Faust” asupra acestei fraze din Noul Testament: cuvânt, sau sens, sau forță - care a fost primul? Aceasta este o congruență surprinzătoare cu noțiunea noastră actuală despre originea vieții: literele și cuvintele au fost primele. Primele biomolecule, de acum aproximativ 3,9 miliarde de ani, erau compuse din ARN scurt, iar ARN-ul este format din nucleotide ca elemente de bază, care pot fi descrise pe scurt ca patru litere A, U, G și C. Doar patru litere sunt necesare pentru a codifica complexitatea vieții pe Pământ - adică uimitor de puține. Bazele sunt părți ale nucleotidelor, iar numele lor furnizează abrevierile. De unde au apărut aceste prime patru litere la început? Poate că erau doar două la început. Au apărut ele prin fulgere și furtuni într-o supă primordială pe fundul oceanelor, în jurul vulcanilor sau al orificiilor hidrotermale, „fumătorii negri”? Acolo temperaturile pot varia de la 0 până la 400°C. (Da: din cauza presiunii ridicate, temperaturile pot depăși 100°C.) Cercetătorii încearcă să recapituleze condițiile care ar fi putut duce la apariția primelor molecule de ARN. Acest lucru a fost atât de dificil încât unii oameni de știință l-au folosit ca argument împotriva rolului ARN-ului la începutul vieții. ARN-ul a luat naștere în permafrost? Într-adevăr, ARN-ul este stabil la temperaturi scăzute. Cercetătorii de la Institutul Max Planck din Gottingen depozitează ARN în congelatoare pentru a afla dacă acesta poate crește, se poate replica și poate suferi mutații. Este mai probabil un început în gheață? Temperaturile ridicate ar degrada ARN-ul.



Arborele vieții, mingea de fotbal simbolizează transferul orizontal de gene (HGT) prin viruși, toți suntem înrudiți!

Dacă avem nevoie de o explicație pentru ceva necunoscut, tindem să ne gândim la origini extraterestre sau la meteoriți. Joseph Kirschvink, de la Institutul de Tehnologie din California, a sugerat că meteoriții au donat componente ale vieții, la sărbătorirea celei de-a 90-a aniversări a lui

Freeman Dyson. A fost serios? Probabil că da, cu toate acestea, depinde de tipul și dimensiunea „componentelor” - fier da, dar ARN? Dacă această discuție despre originea vieții nu este chiar ceașca dumneavoastră de ceai, atunci săriți la secțiunea salată - veți pierde doar câteva detalii. Altfel, pentru cei încă interesați: Rezultatele experimentale recente au fost spectaculoase! John D. Sutherland și colegii săi din Marea Britanie au publicat în 2015 rezultatul foarte surprinzător al unui experiment. Într-un singur vas de reacție, conținând exclusiv HCN, P, H2S și H20 (cianură de hidrogen, fosfor, hidrogen sulfurat și apă) și având ca sursă de energie lumina ultravioletă, ei au produs toate cele trei componente principale ale vieții: nucleotide pentru acizii nucleici, aminoacizi pentru proteine și lipide pentru a forma picături, toate împreună într-o singură eprubetă. Astfel, ARN-ul ar fi putut fi produs pe Pământ - o idee care a fost frecvent pusă la îndoială de biochimiști. Aminoacizii sunt, de asemenea, considerați de unii specialiști ca fiind posibil să fi fost componentele primare ale vieții, însă ei nu se reproduc. Lumina ultravioletă ar putea fi înlocuită de alte surse de energie. Lumina nu a fost neapărat primul furnizor de energie, deoarece nu poate pătrunde mai mult de aproximativ 200 de metri sub nivelul mării. Viața are nevoie de energie. Nu există „mașini cu mișcare perpetuă”. Totuși, energia nu trebuie să provină neapărat de la soare sau de la o celulă. Energia chimică poate fi suficientă. Celulele au apărut mult mai târziu. Acest lucru ne conduce la întrebarea: Ce a apărut mai întâi, virusul sau celula? În general, se presupune că virușii au nevoie de celule și, prin urmare, celulele au fost primele care au apărut. Cu toate acestea, virușii au nevoie de energie - nu neapărat de energia unei celule. În adâncurile oceanelor există energie chimică, care este prezentă în compușii chimici, și energie termică. Unele reacții chimice ar putea fi realizate de primele forme de viață, care pot fi atât de specializate încât pot „linge” electrozii pentru a capta electroni pentru reacții chimice și pentru a reduce dioxidul de carbon CO_2, așa cum s-a arătat în 2015 într-o expoziție la Muzeul American de Istorie Naturală despre «Viața la limită». Apa ar putea într-adevăr să își aibă originea în Big Bang și, prin urmare, să aibă o vechime de 14 miliarde de ani, ajungând pe Pământ ca „bulgări de zăpadă murdari” din spațiul extraterestru. Alte elemente, de asemenea, provin din spațiul cosmic, unde praful s-a adunat sub presiunea gravitației și s-a topit în elemente mai grele. Viața este într-adevăr făcută din „praf de stele”.

În prezent, virușii și-au „minimalizat” stilul de viață și depind de celule. Dar la început s-ar putea ca situația să fi fost diferită. (Cum s-ar fi putut întâmpla acest lucru este discutat în cap. 12.) Un început trebuie să fie simplu - Charles Darwin a crezut la fel, dar nu toți colegii mei sunt de acord cu acest lucru.

Dacă presupunem că ARN-ul a apărut primul, ceea ce este larg acceptat, atunci primele molecule de ARN trebuie să fi fost scurte. Cu cât o moleculă de ARN devine mai lungă, cu atât devine mai instabilă. Manfred Eigen a calculat că frecvența erorilor în timpul dublării ARN-ului este echilibrată de lungimea ARN-ului: rata erorilor X lungimea este egală cu aproximativ 1 (de exemplu, 100 de nucleotide și o rată a erorilor de 1% dă o rată medie a erorilor pe moleculă de ARN de 1; sau copierea celor 10 000 de nucleotide ale HIV ar permite aproximativ 100 de erori). Prea multe erori de copiere conduc la o „catastrofă a erorilor” și pun capăt dezvoltării, în timp ce prea puține erori nu creează suficiente informații noi. Într-adevăr, Eigen a încercat să ucidă HIV prin creșterea artificială a numărului de mutații. Spațiul de secvențe pentru ARN este imens. Dacă presupunem o lungime de 50 de nucleotide bazată pe cele patru nucleotide, atunci sunt posibile 4^{50} sau 10^{30} de secvențe diferite. Poliovirusul, cu cele 7500 de nucleotide ale sale, poate alege, în teorie, între 4^{7500} de secvențe.

Adică mai mult decât există atomi pe planeta noastră sau stele pe cer - din care există „doar” 10^{25}. Astfel, sunt posibile mai multe secvențe decât ar putea fi utilizate vreodată în natură.

ARN-ul mai prezintă o caracteristică specială: ARN nu este niciodată o singură specie definită, ci întotdeauna un amestec de secvențe diverse, un roi. Eigen a introdus cuvântul „cvasi-specii” pentru aceasta. Acesta este un rezultat al frecvenței ridicate de mutație a moleculelor de ARN în curs de replicare, care nu conduce la un singur tip de moleculă, ci la o populație de multe molecule strâns înrudite, dar diferite. Cvasi-specia este ceea ce face ca potențialul inovator al virușilor ARN să fie atât de puternic și superior altor specii. Acest amestec face, de asemenea, ca virusurile ARN - cum ar fi HIV și gripa - să fie atât de problematice, dacă tratăm o variantă, alta

preia controlul. Replicarea ADN-ului este mai puțin predispusă la erori, deoarece al doilea lanț din dublul helix limitează modificările primului lanț, iar celulele au dezvoltat mecanisme de corectare, un fel de „pastă de corecție” - toate acestea lipsesc în cazul ARN monocatenar. Care subpopulație ar trebui să fie tratată cel mai bine prin terapie antivirală? Din fericire, unii viruși sunt mai potriviți decât alții și pot predomina în populație. Acestea sunt tratate primele. Cu toate acestea, odată ce acestea au fost suprimate cu succes, alte variante mai puțin potrivite ajung din urmă. Acestea se dezvoltă adesea ușor mai lent. În cazul în care acestea sunt suprimate de tratament, virusul care s-a aflat mai devreme pe primul loc revine. Acest lucru se poate întâmpla foarte rapid - în 8 săptămâni în cazul HIV, o descoperire care i-a surprins pe mulți oameni de știință. „Câștigătorul” poate fi apoi atacat din nou cu primul medicament. Cum pot fi plasate celulele la originea vieții, dacă acestea au nevoie de un minim de 473 de gene pentru replicare, sinteza proteinelor și creștere în eprubetă, după cum a demonstrat Craig Venter? Această mini-bacterie artificială, care nu crește decât destul de lent, corespunde la 531 560 de nucleotide. O celulă vie naturală, cum ar fi bacteria *E. coli*, are 4300 de gene, ceea ce corespunde la 4,6 milioane de nucleotide - prea mult pentru început. Cât de mici pot fi organismele? Virusurile sunt la limita vieții, chiar dacă virusurile gigantice, cu până la 2500 de gene, pot fi de cinci ori mai mari decât unele celule bacteriene. Poxvirusurile, care sunt aproape viruși gigantici, au 500 de gene, virusurile herpetice 100 de gene, retrovirușii, virusurile gripale sau polioviruși aproximativ 10 gene fiecare. Și mai mici sunt viruși vegetali, cum ar fi virusul mozaic al tutunului TMV, cu numai patru gene. Multe dintre acestea au funcții duble într-o singură moleculă - un truc viral minimalist tipic: o moleculă cu două terminații scurte diferite este suficientă pentru a conferi mai multe proprietăți unei molecule. Există entități fără nicio genă? Da, într-adevăr, există.

Ei sunt candidații mei preferați pentru originea vieții. Sunt mici și simple. Este incredibil ce pot face - aproape totul. Vă rugăm să continuați lectura (vezi viroizi, p. 199f.)!

Prima a fost găina sau oul? - Nici una, nici alta!

Există o moleculă de ARN cu proprietăți foarte speciale, ARN catalitic, denumit și „ribozimă” - un cuvânt combinat din „ribo-” și „enzimă”, deoarece ARN-ul se comportă ca o enzimă, chiar dacă nu este o proteină (din care enzimele constau în mod normal). Această ribozimă poate cliva alt ARN în mod repetat fără a fi epuizată, ceea ce este tipic pentru activitățile catalitice ale enzimelor în general.

Recent, în California, s-a demonstrat că astfel de molecule de ARN pot fi puse într-o eprubetă, unde pot face lucruri surprinzătoare. Ele se pot cliva, uni, replica și chiar muta pentru a evolua și a se apăra împotriva ARN-urilor înrudite. Replicarea ARN într-o eprubetă a fost demonstrată de Jerry Joyce din La Jolla, care a căutat timp de mulți ani să găsească condițiile adecvate pentru un astfel de experiment. El a selectat în mod repetat dintr-un rezervor de ARN ARN-ul cu replicare mai rapidă pentru o altă rundă de replicare, ceea ce a dus la rate de replicare tot mai rapide. Acest lucru corespunde evoluției în eprubetă, unde ARN-ul se poate multiplica și îmbunătăți - adică poate evolua. S-ar putea să nu fie încă viața reală, dar se apropie. Un grăunte de nisip foarte mort nu poate face acest lucru. Prin urmare, o ribozimă este cel puțin mult mai vie decât un bob de nisip.

ARN catalitic a fost descoperit de Tom Cech și Sidney Altman. La acea vreme, se credea că activitatea catalitică este privilegiul proteinelor și nimeni nu s-a gândit la ARN ca posibil catalizator. Astăzi, *ribozimele* pot fi considerate drept cele mai importante elemente de construcție la începutul și chiar de-a lungul evoluției - până în prezent. ARN-ul catalitic poate chiar să efectueze autocurățarea și apoi să repare tăietura, ceea ce este similar cu mecanismul de *splicing*, discutat anterior. *Ribozimele*, molecule mici de ARN, le pot face pe toate: scindare, îmbinare, replicare, evoluție - în timp ce celulele mamiferelor au nevoie de mai mult de o sută de proteine pentru doar una dintre aceleași proceduri, pentru *splicing*. Desigur, nu există o comparație reală, deoarece noi suntem mult mai complicați, inclusiv în ceea ce privește *splicarea*. Cu toate acestea, *ribozimele* sunt atât de simple și versatile, așa că nu par foarte vechi? Mai multe dovezi în acest sens vor urma.

Acum există un nou răspuns la întrebarea care a fost primul, ADN-ul sau proteinele - o versiune molecular-biologică a binecunoscutei întrebări despre ou sau găină. Răspunsul este simplu: niciunul dintre ei. A fost ARN-ul! Acest lucru este menţionat chiar şi în comunicatul de presă al Comitetului de acordare a Premiului Nobel pentru Cech şi Altman în 1989, când au fost onoraţi pentru descoperirea spectaculoasă a ARN catalitic, *ribozimele*. Cu toate acestea, enzimele proteice nu au căzut în dizgraţie totală, deoarece majoritatea lor sunt cu ordinul de mărime mai eficiente decât ARN-ul catalitic. Enzimele proteice sunt la baza întregului nostru metabolism, în toate celulele noastre. Dar ele au apărut mai târziu. Iar sinteza proteinelor are nevoie de *ribozime*! Aşteptaţi şi veţi vedea. Unele *ribozime* s-au transformat în cursul evoluţiei în enzime proteice. Trecerea de la ARN la proteine este un progres general în evoluţie şi poate fi observată frecvent.

Viroizii - primii viruși?

Heinz Ludwig Sanger era profesor la Institutul de Virusologie de la Universitatea din Giessen. Tatăl lui Sanger deţinea o pepinieră de plante şi Sanger observase că unele frunze de plante păreau uscate, în ciuda faptului că nu duceau lipsă de apă. El a căutat cu perseverenţă cauza acestei situaţii şi, în cele din urmă, a găsit *viroizii*. Aş dori să includ *viroizii* în grupul de viruşi şi voi explica acest lucru mai târziu. Sanger a devenit violog de plante şi aproape că şi-a pierdut slujba, deoarece ani de zile nu a reuşit să producă *viroizi* din plante bolnave. Asta se întâmpla în anii 1960. Fundaţia Ştiinţifică Germană nu a mai avut răbdare şi a fost pe punctul de a-i anula subvenţiile. Directorul institutului său a trebuit să intervină şi să ofere o apărare elocventă a acestui tip de cercetare, şi este un noroc că a făcut-o. În cele din urmă, Sanger a crescut temperatura din sera sa. Sună banal şi prea simplu - dar era absolut esenţial şi a permis în cele din urmă producerea şi izolarea *viroizilor.* Laboratorul său mirosea îngrozitor a fenol, necesar pentru izolarea ARN-ului viral din frunzele plantelor - ca şi cum cercetarea *viroizilor* ar fi constat doar în extracţii cu fenol - ceea ce s-a şi întâmplat pentru o bună perioadă de timp. În cele din urmă, a fost colectat suficient ARN *viroid*, astfel încât Sanger şi colegii săi au putut determina secvenţa ARN-ului. Aceasta se întâmpla cu mult înainte ca secvenţierea de mare capacitate să devină posibilă, iar secvenţierea a 365 de nucleotide era un record tehnic. Acest lucru a fost realizat cu mare discreţie, astfel încât directorul Institutului, care era de ajutor, dar mai degrabă dominant, să nu poată transmite vestea prematur. ARN-ul nu numai că a fost secvenţiat, dar a fost şi identificat ca un inel. Această concluzie s-a desprins din proprietăţile neobişnuite de migrare ale ARN-ului în aparatul de electroforeză pe gel, care separă moleculele în funcţie de dimensiune cu ajutorul unui curent electric. De asemenea, concurentul (sau colegul) lui Sanger, Theodor O. Diener din SUA, a observat un ARN circular în imaginile obţinute cu microscopul electronic. Cu toate acestea, inelele de ARN erau atât de neobişnuite încât ideea a fost respinsă ca fiind un artifact. Ei chiar au tăiat structurile inelare şi nu le-au publicat. Probabil că s-au supărat pe ei înşişi mai târziu, pentru că au ratat o noutate spectaculoasă.

Toate acestea erau noi şi înaintea timpului lor. Ar fi putut însemna un premiu Nobel pentru Sanger şi Diener sau chiar pentru alte grupuri. Ei au descoperit *viroizii* independent şi simultan. Sanger a devenit director al Max Planck la München, dar mai târziu s-a îndreptat spre misticism, departe de ştiinţă.

Detlev Riesner, care a fondat ulterior compania Qiagen, a continuat analizele *viroizilor* prin purificarea şi încercarea de a izola cele mai mici cantităţi posibile de ARN. Riesner a căutat ulterior ARN în preparatele prionice împreună cu Stanley Prusmer, specialist în *prioni* din SUA. Până în prezent, nu a fost găsit ARN în *prioni*. Până la nivelul posibil de sensibilitate. În calitate de expert în acizi nucleici, Riesner a înfiinţat Qiagen, cea mai de succes companie biotehnologică din Germania. Oriunde în lume am intrat într-un laborator - Coreea, China, Egipt - peste tot, în peste 20 de ţări, cutiile albastre Qiagen nu puteau fi trecute cu vederea. De asemenea, colegii mei de muncă doreau să cumpere produse Qiagen pentru orice, uneori chiar şi pentru cele mai banale şi chiar lipsite de sens experimente! Acest lucru m-a adus la limita răbdării mele şi am refuzat să semnez ordinele de cumpărare. În cutii se găseau chiar şi sticluţe cu apă distilată şi sterilă, ca pentru o „prăjitură

instantanee”: adăugați apă și amestecați - asta era tot. Cutiile de unică folosință erau însă motivul succesului incredibil al companiei, deoarece nu se putea produce nicio contaminare, nici măcar cu cele mai mici cantități de acid nucleic - care, altfel, este un artefact frecvent. Riesner este încă un antreprenor entuziast, cu mult peste vârsta de pensionare. Tocmai a demarat o nouă companie cu *ribozime* fabricate din ADN, care urmează să fie puse în funcțiune împotriva bolilor neurodegenerative, cum ar fi boala Alzheimer, cu puterea unui Golden Business Angel. El conduce consiliul de administrație al aproximativ 15 societăți de biotehnologie și este mai aproape de biotehnologie decât de hobby-ul său cu mașinile de epocă. Am fost co-fondator al uneia dintre companiile sale. A ratat Premiul Nobel? - „Mai mult de o dată” a fost răspunsul său.

Viroizii - analfabeți atotcuprinzători

Cadang Cadang - așa numesc băștinașii din Filipine boala palmierilor lor de nucă de cocos. Ea este cauzată de *viroizi*. Ce sunt *viroizii*? Nu sunt viruși? Se comportă ca virușii, dar nu arată ca virușii, sunt goale și nu au un strat, astfel încât numele de compromis care le-a fost dat a fost „viroid”. Cred că ar trebui incluse în familia virușilor, dar nu toți virologii sunt de acord. Dacă vedem o persoană cu haină și o numim om, atunci persoana goală este un „hominoid” sau tot un om? Așadar, aș dori să includ *viroizii* în familia virușilor. Ele sunt pur și simplu ARN gol. Am scris un articol pe această temă „*Virusurile sunt cei mai vechi strămoși ai noștri*” pe care l-am publicat, deși urmat de un modest semn de întrebare! Dacă *viroizii* sunt cele mai vechi biomolecule, atunci virușii sunt într-adevăr cei mai vechi strămoși ai noștri.

Stăteam la masa micului dejun în Busan, Coreea de Sud, în timpul unui summit mondial de virusologie, la care erau cel mult 50 de participanți. Cu siguranță, acesta nu a fost *summitul* anunțat și nu s-a ridicat la nivelul așteptărilor participanților. Este posibil ca coreenii să nu fi prevăzut cât de puțini participanți se vor prezenta. A rezultat, totuși, o consecință surprinzătoare: cei foarte puțini participanți ușor frustrați au vorbit între ei mai mult decât o fac 25 000 de persoane la un *summit* mondial privind HIV - un lucru la care trebuie să ne gândim.

Așa că l-am ascultat pe John W. Randies, în vârstă de 80 de ani, căruia politicienii filipinezi i-au cerut ajutorul în urmă cu mai bine de 50 de ani pentru a combate ceea ce ucide palmierii. I s-au arătat pădurile devastate dintr-un avion și a găsit soluția: băștinașii se urcau în vârful copacilor, de unde tăiau fructele folosind mereu același cuțit - transportând astfel un presupus agent infecțios de la un copac la altul. Într-adevăr, în seva copacilor erau prezenți *viroizi*, denumiți ulterior *Coconut Cadang Cadang viroizi*. Acestea pot provoca pagube economice enorme, deoarece infectează palmierii, ananasul și ardeiul iute - dar și cartofii în Europa. Cuțitele contaminate pentru palmieri seamănă cu seringile și acele contaminate care transmit HIV în rândul consumatorilor de droguri sau în spitalele prost echipate care nu își permit ace de unică folosință. Infecțiile cu HIV au fost răspândite în spitale la începutul epidemiei din Kinshasa, Africa. În mod similar, virusul hepatitei C, VHC a fost, din păcate, răspândit prin injecții împotriva schistosomiozei (la fel ca bilharzia) cu ace contaminate în tot Egiptul. Aceasta a abolit boala tropicală cauzată de viermii împerecheați din tractul urinar, dar acele contaminate au infectat milioane de oameni cu VHC, ducând la carcinoame hepatocelulare. Similar cu virozele Cadang Cadang din palmieri.

Viroizii sunt *ribozime* active din punct de vedere catalitic, agenți patogeni pentru plante, care infectează plantele, se replică, provoacă boli și se comportă exact ca virușii - dar nu așa sunt numiți. Nimeni nu a avut curajul să le desemneze drept virusuri, deoarece nu respectau regulile aplicabile virusurilor: ARN-ul gol fără înveliș nu se încadrează în definiția virusurilor care era în vigoare în anii 1960 și nici astăzi. Prin urmare, oamenii de știință au încercat să găsească un compromis și le-au denumit „*viroizi*”, entități asemănătoare virusurilor. Viroizii sunt ARN circulari, adesea activi din punct de vedere catalitic, compuși exclusiv din ARN. Prin urmare, nici astăzi nu sunt considerate „viruși adevărați”. *Viroidele* nu folosesc o haină, și nu numai atât, dar nici măcar nu pot citi codul genetic, care codifică aminoacizii, chiar dacă cele patru nucleotide sunt disponibile, dar nu sunt organizate sub formă de tripleți, o condiție prealabilă pentru recunoașterea aminoacizilor codificați. Astfel, *viroizii* trebuie să fi existat înainte de dezvoltarea codului. Ele sunt, ca să spunem așa,

analfabeți genetici. Și - cel mai surprinzător - au rămas așa până astăzi. Și sunt frecvente pe planeta noastră. *Viroizii* sunt prezenți în principal în plante și mi se par a fi martori și indicatori ai începutului vieții. Ele aparțin celor mai vechi reprezentanți și relicve ale lumii ARN timpurii - chiar dacă astăzi nu sunt foarte apreciate ca atare. Ele trebuie să fie mai vechi decât codul genetic" deoarece ARN-ul lor nu este codificator; ele au precedat sinteza proteinelor. Dar, aici intervine o surpriză: ele au făcut posibilă sinteza proteinelor, deoarece nu există proteine fără *ribozime*! Ele însele sunt lipsite de orice informație genetică pentru aminoacizi sau proteine. Așadar, secvențele lor de ARN ar putea fi aleatorii? Niciodată! ARN-ul *viroizilor* conține cu siguranță informații - dacă nu sub formă de secvențe codante, atunci cu siguranță în structura sa, care, de asemenea, depinde cumva de secvență. Informațiile structurale și de sarcină electrică conduc la formarea structurilor în buclă, necesare pentru replicare, pentru scindare și îmbinare și pentru interacțiunea cu mediul.

Unii dintre *viroizi* sunt până la 70% autocomplementari, ceea ce înseamnă că sunt aproape dublu-catenari cu bucle monocatenare între ele. Acestea permit interacțiuni cu alte molecule din mediul lor înconjurător. Astfel de structuri sunt mai stabile decât ARN-ul monocatenar - ceea ce este bine cunoscut de orice biochimist din laborator, unde multe nopți nedormite sunt cauzate de rata ridicată de degradare a ARN-ului. Toate instrumentele și soluțiile (inclusiv apa) trebuie tratate cu reactivi speciali (cum ar fi DEPC, dietilpirocarbonat), pentru a le face nu numai fără germeni, ci și fără nuclează - fără enzime care distrug ARN. Și mai bine ar fi un laborator complet separat, fără niciun schimb de aer. Chiar și Charles Darwin a avertizat cu privire la „nucleaze" (deși nu a folosit acest termen), prezicând că, în condițiile pe care le avem astăzi pe Pământ, originea vieții nu poate fi repetată. Ar fi prea ostil aici. Nucleazele sunt „ostile". În plus, nu vom ști niciodată ce fel de condiții au existat inițial pe planeta noastră. Dar Darwin a mai spus că nu se poate exclude posibilitatea ca toate entitățile vii de pe Pământ să aibă ca origine un singur precursor. Poate *viroizii*? Sunt destul de simple. Sunt singurele biomolecule ultra-simple, care se autoreplică chiar și în lumea actuală. La începutul vieții, protecția împotriva amenințărilor mediului a fost cu siguranță necesară; dar cum a fost aceasta asigurată - prin structuri în buclă, compartimente, nișe sau prin lipide? Nu știm.

Este demn de remarcat faptul că *viroizii* sunt *ribozime*, cercuri închise colapsate, parțial dublu-catenare și catalitic active. *Ribozimele* pot avea o lungime de 50 de nucleotide, iar viroizii de astăzi sunt de aproximativ șapte ori mai mari. Ambele sunt cercuri închise. Mai târziu, pe parcursul evoluției, *viroizii* și-au pierdut uneori activitatea catalitică. *Viroidul* tuberozei fusiforme a cartofului (Pospiviroid sau PSTVd, d-ul mic indică *viroidul*), care a făcut obiectul multor studii, este inactiv din punct de vedere enzimatic. Dar pierderea unei funcții indică faptul că activitatea nu mai era necesară. Virusul a devenit „leneș". Celulele au preluat unele sarcini. Pentru a se replica, au avut nevoie de ajutorul celulei plantei gazdă. Cunoaștem două forțe în biologie, creșterea și scăderea complexității - scăderea fiind adesea posibilă dacă capacitatea pierdută este furnizată din altă parte. Astfel, pierderea activității *viroidului* s-ar putea datora unei schimbări în stilul de viață, în funcție de celula gazdă.

Cititorul se poate întreba cum mor cartofii de *viroizi*. Patogenitatea *viroizilor* nu este bine înțeleasă. Funcționează prin interacțiunea ARN-ARN sau ARN-proteină în interiorul celulelor sau prin activitatea *viroizilor*? Virusurile pot activa mașinăria **siARN** de *silențiere* și pot induce *silențierea* genelor prin intermediul ARN din complexul de *silențiere*, RISC. Există o secvență constantă, o regiune „nucleu ARN" în *viroizi*, este aceasta o regiune patogenă - ce este? Cu siguranță, acizii nucleici pot interacționa și cu proteinele din interiorul celulelor, ceea ce ar putea provoca patogenitate.

De altfel: Eu includ *viroizii* în familia virusurilor. Dacă este așa, atunci ar trebui să concluzionez: „Virusurile sunt cei mai vechi strămoși ai noștri" - deoarece *viroidele* sunt cele mai vechi virusuri, despre care am publicat, deși urmat de un modest semn de întrebare!

ARN-ul aparține originii vieții, tranziției de la chimie la biologie. ARN ar putea îndeplini două funcții care amintesc de ceea ce Freeman Dyson menționează în titlul cărții sale *Origins of Life* - ceea ce înseamnă cel puțin două origini, deoarece el folosește pluralul. Aceste origini sunt „software" și „hardware". Dyson a fost inspirat de John von Neumann, unul dintre fondatorii

informaticii, care a fost unul dintre colegii săi la Institute for Advanced Study din Princeton. ARN ar îndeplini ambele cerințe, deoarece este singura moleculă de pe Pământ pe care o cunosc cu o astfel de funcție dublă. ARN-ul este un purtător de informații - software - precum și o mașină, o enzimă - hardware - pentru propria sa replicare. Ce condiție prealabilă unică pentru o origine, pentru un început.

Când l-am întrebat pe Freeman Dyson la Princeton dacă mai crede în două origini ale vieții, acesta a răspuns enigmatic: „Nu am susținut că există două origini, este doar o posibilitate".

Inițial, el se gândise la informația genetică și la metabolism ca fiind cele două origini.

Cercuri de ARN

ARN-ul antic revine în actualitate. Acesta seamănă foarte mult cu ARN-ul circular recent descoperit, abreviat „circRNA". Rudele circRNA au fost descrise mai sus ca *viroizi* și ribozomi foarte vechi (din punct de vedere evolutiv). Familia lor a crescut enorm dintr-o dată.

ARN circ a fost ignorat aproape zeci de ani, deoarece cercetătorii căutau moleculele de ARN prin căutarea capetelor lor. Dar ARN-ul circular nu are extremități. Acest circARN este necodificator și are un rol de reglementare. Ne apropiem acum de o duzină de ARNnc de reglementare cunoscuți. Lumea ARN-ului este mai mult în centrul lumii noastre decât am anticipat.

La ce anume este bun acest circARN? Este o rezervă pentru alte ARN de reglementare. Este un „regulator șef" al altor ARN de reglementare, un regulator al regulatorilor. De ce este necesar un astfel de șef? Se presupune că reglementarea nu are voie să fie predispusă la erori și are nevoie de un mecanism de securitate în doi pași. circARN nu sunt nici măcar rare - celulele noastre sunt pline de ele. Există aproximativ 25 000 de circuri ARN pe celulă în corpul nostru. Acestea au fost detectate și în archaea, în ciuperci și, deloc surprinzător, în șoareci. Acestea sunt mai abundente în creier, la joncțiunile neuronale, la sinapse, unde pot influența dezvoltarea, așa cum se întâmplă la muște, sau se pot acumula în timpul îmbătrânirii. Acest lucru ridică imediat întrebări cu privire la boala Alzheimer - ar putea fi cauzată de eșecul unui regulator principal?

La 1500 de nucleotide, aceste cercuri sunt puțin mai mari decât *viroizii* (care sunt, de asemenea, cercuri închise) - de aproximativ trei ori mai mari. Celulele noastre actuale sunt pline de „rude ale *viroizilor*". Ce surpriză! *Viroidele* se găsesc în principal în plante, în timp ce circRNA-urile se găsesc în multe specii. Se găsesc și în plante? Cum sunt generate cercurile? „*Ribozimele* ciclasice" formate din ARN pot produce cercuri. Multe întrebări rămân încă fără răspuns.

Cercurile au avantaje semnificative, sunt foarte stabile cu regiunile lor parțial dublu-catenare, asemănătoare buclelor în ac de păr și pentru că nu pot fi degradate de la capete. Fiecare cerc poate titra sute de alte ARN-uri reglatoare, cum ar fi **siARN**-urile silențioase, amintindu-mi de dungile lipicioase de hârtie de muște ale bunicii mele care atârnă de tavanul bucătăriei. Autorii descriu circRNA drept un „burete", nu dungi lipicioase, care absoarbe microRNA-urile de reglementare.

În creierul șoarecilor, un microARN de acest tip, *miR-7*, a fost eliminat de un circARN circular cu consecințe potențiale asupra cancerului - care este în curs de investigare. Noile circRNA sunt „analfabeți" complet necodificatori, cum le numesc eu. Cu toate acestea, ele sunt perfect capabile să îndeplinească funcții cu structura lor - care, în cele din urmă, se bazează și pe secvențe, dar nu pe codul genetic, astfel încât nu suntem capabili să le „citim". CircRNA este produs într-un mod special: nu prin *splicarea* intronilor, ci a *exonilor*, într-un mecanism numit „*back-splicing*" sau „splicing inversat". Ani de zile, s-a crezut că este vorba de o greșeală de *splicing*. Nu este, într-adevăr, foarte surprinzător faptul că cel mai vechi tip de ARN din celulele noastre actuale este atât de dominant și de relevant? Nu, poate că nu, deoarece un ARN circular este atât de bine conceput, atât de imbatabil, de o rezistență atât de mare și de o calitate tehnică atât de perfectă în interiorul celulelor, încât nu a dispărut. ARN-ul circular **circ** a supraviețuit începutului periculos din supa primordială, iar după aceea pericolul degradării a fost mult mai puțin acut! Celulele sunt porturi sigure.

Din circARN de astăzi se poate afla poate chiar cum funcţionează *viroizii*, despre interacţiunea lor cu alte ARN-uri sau alte tipuri de factori sau despre comportamentul lor „burete”. Recent, *ribozimele*/viroizii sau circARN au obţinut în mod neaşteptat noi membri ai familiei, piRNA, un ARN reglator necodificator foarte surprinzător, implicat în moştenirea transgenerațională (cap. 12).

Ce păcat că H.L. Sanger, cercetătorul *viroidelor* din Giessen, nu a trăit să afle despre consecinţele generale ale *viroidelor*, care au devenit un principiu al biologiei la 50 de ani după descoperirea lor spectaculoasă. Un cercetător actual al ARNc din Berlin nu părea să-şi amintească de ARN *viroid*, sau cel puţin nu l-a menţionat în publicaţia sa sau în conferinţa sa plenară. Când l-am întrebat de ce nu, răspunsul a fost - oh, bine, asta a fost acum atât de mult timp - foarte amuzant, chiar şi într-o prezentare publică. Lucrările lui Sanger şi Diener nu au fost citate deloc. Este acesta un obicei prost, o uitare sau chiar un comportament necorespunzător? Cunoştinţele de istorie a ştiinţei sunt de scurtă durată, din păcate. Unii oameni o găsesc plictisitoare!

Ribozomii sunt ribozime - virușii fac proteine!

Cum sunt fabricate proteinele? Sinteza proteinelor este un semn distinctiv în evoluţie şi separă două lumi: lumea vie de lumea moartă. Dar răsturnarea de situație în această poveste este că virușii adesea consideraţi ca făcând parte din lumea „moartă”, sau mai exact viroizii, sunt cele mai multe, sau poate chiar singurele elemente esenţiale reale necesare pentru producerea vieţii! Ele sunt cheia sintezei proteinelor: viroizii sunt necesari pentru viață.

T. Cech şi S. Altman (Premiul Nobel 1989) au plasat *ribozimele* în centrul lumii biologice. Apoi a urmat un alt Premiu Nobel pentru *ribozime*: pentru Tom Steitz (2009). El a observat că ribozomii, maşinile de sinteză a proteinelor, nu funcţionează aşa cum credea toată lumea. În special la Berlin, la Institutul Max Planck de Genetică Moleculară, se presupunea că principalii jucători în jocul sintezei proteinelor erau chiar proteinele. Ribozomii sunt formaţi din aproximativ o sută de proteine, care au fost în centrul unei cercetări intensive, pe scară largă. La Berlin era angajat un colaborator pentru fiecare proteină şi existau sute de oi producătoare de anticorpi. Acestea ţineau iarba scurtă pe aeroportul Tempelhof din Berlin şi erau bune pentru producţia de anticorpi. Am adus clandestin câteva dintre oile mele, care produceau anticorpi împotriva oncoproteinelor, şi am mituit ciobanul să aibă grijă de ele. Secvenţierea proteinelor, de asemenea, a fost un efort major pentru caracterizarea celor o sută de proteine ribosomale şi a structurii ribozomilor. Nu a fost totul greşit - dar actorii-cheie nu erau proteinele, ci ARN-ul, sau mai exact: ARN-ul catalitic, bine ascuns în partea interioară a imensului complex multiproteic din interiorul ribozomului. Tom Cech a inventat sloganul: „**Ribozomii sunt ribozime**”. ARN-ul este calul de bătaie, nu numeroasele proteine, care servesc doar ca schelet pentru a menţine conformaţia corectă a ARN-ului. Toate proteinele au fost cristalizate printr-un truc: au fost izolate din *archaea* - prima dată în viaţa mea am auzit de ele, acum 30 de ani. Termorezistenţa *arheilor* le face mai stabile şi mai uşor de cristalizat pentru determinarea structurii. Acest lucru a dus în cele din urmă la acordarea Premiului Nobel în 2009 pentru Ada Yonath şi alţii. Yonath, din Israel, a fost un oaspete frecvent la Berlin. Ea a descoperit tunelul din centrul ribozomilor, care poate fi ocupat de lanţurile de aminoacizi nou formate şi în creştere - o imagine care a decorat cândva coperta revistei *Nature*. Când eram copii, aveam o bobină roşie de lemn pentru tricotat în formă de ciupercă cu patru cuie şi foloseam un cârlig de croşetat pentru a tricota un cordon, care creştea apoi din partea de jos a bobinei - ca un ribozom care eliberează un lanţ polipeptidic în creştere. Mâna de tricotat corespunde unei *ribozime*! Restul corespunde unui ribozom. Ada Yonath a subliniat în prelegerea sa Nobel de la Stockholm că gaura a fost făcută din ARN, nu din proteine. Ea a evoluat dintr-un proto-ribozom mai primitiv în cursul evoluţiei. Şi aici, începutul a fost ARN-ul, un *sfânt graal* aflat în centrul maşinăriei de sinteză a proteinelor. ARN-ul este catalitic activ - şi aminteşte de *viroizi*.

Un element asemănător virusului - un *viroid* - în centrul ribozomilor - un lucru cu totul neaşteptat, pe care nimeni nu pare să îl observe. O sută de proteine ribozomiale servesc doar ca schele, sau servitori, pentru a ajuta ribozomul să-şi facă treaba corect. Ribozomii sunt diferiţi în

fiecare tip de bacterie, iar una dintre componentele ARN ale acestora (denumită ARNr 16S sau echivalentul ADNr) reprezintă baza pentru identificarea și clasificarea lor. Ribozomii sunt țintele antibioticelor salvatoare, dintre care unele ocupă gaura și blochează astfel sinteza proteinelor. Astfel, bacteriile mor, iar noi supraviețuim. Rezistența la antibiotice este o preocupare majoră în prezent, iar mutațiile menite să blocheze din nou gaura de către antibiotice reprezintă o abordare pentru depășirea acesteia. Dacă funcționează - bine! Ada Yonath încearcă acest lucru și a avut dreptate înainte!

Stimulatorul acestei cercetări la Berlin a fost Heinz-Gunther Wittmann, care a decedat acum. Realizarea vieții sale a stat la baza acestui succes. El a livrat toate proteinele la Hamburg, unde Ada Yonath - la DESY (German Electron Synchroton), precum și în Israel - a efectuat analizele cristalografice pentru a identifica structura ribozomului. Îmi amintesc când au fost introduse *arhaea* în acest scop la Institutul Max Planck din Berlin; acestea pot tolera 100 de grade pentru creștere și s-a sperat că proteinele lor ribozomale vor fi mai stabile și se vor cristaliza mai bine - ceea ce s-a dovedit a fi adevărat. Chiar și un zbor pe orbita Pământului a fost testat ca o posibilitate de cristalizare mai bună a ribozomilor în condiții de gravitație scăzută, dar nu s-a reușit. O mostră din transcriptaza mea inversă a fost admisă ca pasager în acel zbor, dar nici aceasta nu a reușit să se cristalizeze. (Într-adevăr, a fost cristalizată ulterior din arheonul termofil *Pyrococcus furiosus*). Ar fi trebuit să mă gândesc să izolez eu însumi enzima transcriptază inversă din *archaea* pentru cristalizare, dar nu am făcut-o. Pur și simplu mi-a scăpat! Structurile cristaline sunt baza pentru proiectarea medicamentelor, motiv pentru care sunt atât de importante.

În mod surprinzător, o relație între *ribozime* și proteine poate fi demonstrată chiar și astăzi cu unele proteine, care poartă o mică coadă de ARN, ca și cum ar fi fost uitată acolo! Este o rămășiță din timpurile îndepărtate ale evoluției? Prima sinteză proteică a început invers, cu ARN și câțiva aminoacizi atașați acestuia (cred). Acest lucru a dus ulterior la proteine „doar”. Dar poate că undeva pe drum a existat această proteină ciudată cu un mic fragment de ARN atașat la ea. Una dintre aceste *chimere* proteină-ARN este vitamina B_{12}, iar alta este acetil-CoA. Ambele sunt molecule foarte importante pentru metabolismul celular și chiar și astăzi ne spun cum ar fi putut fi generate. Proteine cu cozi de ARN conservate - asta ne amintește puțin de apendicele nostru. Astfel de stări de tranziție sunt fascinante și informative, deoarece ne vorbesc despre trecutul nostru și despre evoluție, de la ARN la proteine. Aș dori să adaug aceste două *chimere* la colecția mea de curiozități și să le păstrez într-o *Wunderkammer.*

Cum a început ADN-ul? Sinteza proteinelor nu necesită neapărat ADN, ci ARN. Sinteza proteinelor este semnul distinctiv al vieții - dar viața timpurie nu a avut nevoie de ADN. ADN-ul nu a precedat ARN-ul sau proteinele în lumea noastră. Cum este posibil să se elimine o fracțiune de oxigen din ARN pentru a genera ADN (acid dezoxiribonucleic)? Nimeni nu știe! O enzimă poate face acest lucru astăzi, *ribonucleotida reductaza*. Nu se știe când a apărut o astfel de enzimă proteică. Cu elementele de bază potrivite, molecula mea preferată, transcriptaza inversă, ar fi putut produce ADN din ARN, dar când s-a întâmplat asta? (Astăzi, o RT ar avea nevoie de ADN codificator pentru sinteza ARNm și a proteinelor).

Există dezoxiribozime, mici ADN-uri catalitice, care se pot scinda și uni la fel ca *ribozimele* fără proteine, dar ele nu apar în natură. În prezent, Jack Szostak, adesea citat, le caută. El demonstrează că ARN-ul poate crește fără proteine, cum ar fi polimerazele, dar cum a apărut ADN-ul într-o lume a ARN-ului timpuriu fără proteine? S-ar putea să afle. Cercetătorul Patrick Forterre din Paris a conceput trei celule care conțin ARN - pentru bacterii, *arhaea* și eucariote - pe care le numește „ribovirocelule”, deoarece toate trei sunt celule producătoare de virusuri. Cum a apărut atunci ADN-ul? Astfel, întrebarea privind originea ADN-ului rămâne deschisă - surprinzător, pentru o moleculă atât de importantă. Un lucru este sigur: transcriptaza inversă a fost o forță motrice majoră pentru trecerea de la lumea ARN la cea a ADN-ului. În 2015, transcriptaza inversă a fost descoperită ca fiind cea mai abundentă proteină în genomuri, celule, în diverse organisme, inclusiv în eșantioane oceanice. Transcriptaza inversă este o enzimă atât de frecventă ca parte a retrotransposonilor universali, a genelor săritoare. Trebuie să se întâmple o mulțime de salturi. Unii cercetători cred că aceasta a fost cea mai importantă enzimă cheie pentru viață în timpul evoluției.

Acest lucru este acum susținut de date! Notă: și alții sunt de aceeași părere, și eu sunt de aceeași părere, dar sunt părtinitor, deoarece am fost specialist în transcriptază inversă în ultimii 45 de ani! Uimitor, de la prima descoperire a enzimei la cea mai abundentă proteină din lume!

Frunze de trifoi

O structură moleculară proeminentă a ARN este frunza de trifoi, cu trei bucle în jurul unei tulpini - acesta este modelul care poate fi desenat pe o foaie de hârtie, nu ceea ce este detectat prin determinarea structurii cristalografice. Acest ARN este foarte stabil. S-ar putea ca, prin urmare, să găsim această structură peste tot, de la lumea moleculară la cea macroscopică, frunza de trifoi în pajiștile verzi? Aceasta este o întrebare serioasă! În plus, este amuzant să observăm că ARN-urile de tip frunză de trifoi sunt utilizate pe scară largă de virușii vegetali. Structurile frunzelor de trifoi sunt situate la capetele genomurilor lor ARN adesea monocatenare, pentru a le proteja împotriva degradării. Telomerii de la capetele cromozomilor noștri au pseudonoduri ARN ca o protecție similară, care nu este total străină de ARN-ul de la capetele virușilor. De asemenea, fagii și virusurile ARN, cum ar fi virusul hepatitei C și poliovirusurile, au structuri terminale în buclă de acest tip. Aceasta este o măsură generală luată de viruși pentru a-și proteja capetele. Există chiar viruși care constau dintr-o singură frunză de trifoi ARN și un singur aminoacid - un virus! Mai puțin este aproape inimaginabil. Un alt virus, narnavirusul (care are ARN în numele său) din drojdia de panificație, *Saccharomyces cerevisiae*, este format exclusiv dintr-o jumătate de frunză de trifoi și nimic altceva. Acest lucru este foarte minimalist și cu greu mai poate fi redus. Virusurile ARN au dezvoltat astfel de structuri de frunze de trifoi, probabil din trei ace de păr. Aceste ARN-uri au o lungime de 75 până la 90 de baze și sunt rigide din cauza unor regiuni dublu-catenare. Acum trebuie să dezvălui în sfârșit numele real al acestei structuri, „ARNt”, care înseamnă „ARN de transfer”, deoarece transferă aminoacizi individuali către ribozom pentru încorporarea într-un lanț polipeptidic în creștere. Acesta este modul în care au fost descoperite și definite. Un ARNt și un aminoacid au evoluat până la 60 de tipuri de ARNt și 20 de aminoacizi în celulele noastre. Acestea sunt astăzi componentele importante pentru sinteza proteinelor de către ribozomi. Este posibil ca virusurile să fi fost la originea lor, deoarece au utilizat structurile ARNt cu genomul lor de ARN înainte de a exista sinteza proteinelor. ARNt-urile sunt oricum ARNnc necodificatoare, ceea ce le face să pară vechi. Virusurile din drojdia *S. cerevisiae* par a fi stadii timpurii ale sintezei proteinelor. De asemenea, replicarea retrovirusurilor amintește de o sinteză proteică timpurie. Astfel, virușii pot fi considerați proiectanți sau precursori ai mașinăriilor de sinteză proteică.

De asemenea, se poate întoarce argumentul și sugera că virușii au „furat” ARNt și aminoacizii din celulă. Într-adevăr, aceasta este ceea ce face transcriptaza inversă astăzi pentru a iniția replicarea retrovirală. Ea selectează un ARNt din rezervele din celule. Fiecare tip de virus are o preferință diferită pentru ARNt. Transcriptaza inversă are nevoie de un mâner de care să se agațe pentru a începe și folosește un ARNt în acest scop. Toate manualele de virusologie consideră virușii ca fiind hoți de componente celulare. Eu cred că este invers! Părerea mea este că virușii au fost inventatorii componentelor celulare, constructorii celulelor - și astăzi par să culeagă profiturile fostelor lor realizări. Poate fi interesant de observat că mulți virusologi consideră capacitatea de a sintetiza proteine drept criteriul care separă viața de moarte. Dacă nu este posibilă sinteza proteinelor, sistemul nu este viu - ceea ce este valabil pentru majoritatea virușilor din prezent. Dar, vă rog să nu uitați de virușii giganți - ei conțin ARNt și ribozomi, semne distinctive ale sintezei proteinelor, dar numai seturi incomplete sau fragmente, nu toate. Au pierdut ceva sau au rămas neterminate? Totuși, acest lucru i-a determinat pe descoperitorii lor să proclame foarte recent că virușii giganți sunt originea vieții. Acum rămâne la latitudinea cititorului să ajungă la propria sa concluzie sau să aștepte rezultatele altor experimente.

ARN-ul a devenit un instrument important în biotehnologie. ARN-ul poate prezenta, doar prin pliere, proprietăți similare cu cele ale proteinelor mult mai complexe, formate din 20 de aminoacizi - spre deosebire de cele patru nucleotide necesare pentru sinteza ARN-ului. ARN-ul sintetic este, prin urmare, mult mai ieftin decât proteinele și mai rapid de sintetizat. Acesta poate

adopta structuri complicate și se poate potrivi pe receptori, înlocuind proteinele, imitând chiar liganzi proteici specifici. Aceste ARN-uri sunt numite *aptameri*. Astfel de ARN-uri pot fi sintetizate în laborator din doar patru nucleotide, în timp ce proteinele necesită 20 de aminoacizi, și pot chiar suferi evoluție și selecție în eprubetă pentru a-și îmbunătăți structura și compoziția; această metodă se numește SELEX, un acronim care descrie procedura de selecție și optimizare. Tom Cech a fost cel care a dezvoltat această abordare. Manfred Eigen, laureat al Premiului Nobel pentru Chimie de la Institutul Max Planck din Gottingen, a fondat două societăți, Evotec și Direvo. Numele indică deja care erau obiectivele, chimie evolutivă, „evoluție dirijată”. El a dezvoltat evoluția artificială aplicată compușilor chimici ca nouă procedură de optimizare în eprubetă. Au rezultat enzime proteice cu activități catalitice mult mai mari, care nu au fost găsite niciodată în natură, procese mai eficiente, o mai bună exploatare a biomasei și compuși biologic activi noi. Caracteristica specială a activității lui Eigen a fost că a aplicat principiul evoluției și în lumea non-biologică a moleculelor, pentru a îmbunătăți produsele chimice, materia moartă. Fizician la origine, Eigen a fost cu mult înaintea colegilor săi contemporani - prin stabilirea unei chimii noi.

O proteină ca chaperon (însoțitor)

Darwin a subliniat deja dificultatea de a repeta în lumea noastră actuală reacțiile de la originea vieții. Virușii au dezvoltat modalități de a-și proteja genele prețioase împotriva degradării actuale. O astfel de modalitate este descrisă în continuare.

Un coleg de-al meu a dorit să analizeze o proteină virală din HIV, care acoperă ARN-ul viral și îl protejează împotriva nucleazelor, tipice tuturor virușilor ARN. (La HIV se numește proteină nucleocapsidă, NCp7, iar la virusul gripal se numește nucleoproteină NP. Astfel de proteine de legare a ARN-ului sunt încărcate pozitiv și pot neutraliza sarcina negativă a ARN-ului, acolo unde se aliniază cooperativ, una lângă alta). Astfel de proteine se găsesc chiar și în retrotranspozoni, pentru deplasarea acizilor nucleici.

Li s-a dat numele de „însoțitoare”. Bunicile noastre aveau însoțitori - doamne mai în vârstă, însărcinate de mamele îngrijorate să le însoțească pe tinerele lor fiice nemăritate. Toți virușii ARN folosesc *chaperoni* pentru a-și proteja ARN-ul. Acestea sunt proteine multitasking. Una dintre proprietățile lor este aceea de a ține ARN-urile la distanță - util pentru tinerele fete? Apoi, *chaperonele* pot să topească pliurile ARN și să sporească interacțiunile ARN-ARN (despre care bunicile noastre probabil că nu știau) și să aplaneze ridurile, structurile secundare, din ARN. Ele pot derula structurile în formă de frunză de trifoi ale ARNt pentru a direcționa unul dintre brațele sale ca *primer* pentru replicarea ARN. De asemenea, replicarea virală este mult mai eficientă în prezența *chaperonilor.* Transcriptaza inversă alunecă pe ARN mai eficient dacă este descâlcită de *chaperone*. În mod intuitiv, s-ar putea crede că proteinele care se leagă de ARN sunt obstacole care împiedică enzima să alunece pe ARN; cu toate acestea, contrariul este adevărat, deoarece acestea cresc de fapt rata de transcripție. Proteinele sunt foarte lipicioase, din cauza încărcăturii lor pozitive, iar în laborator uneori refuză să părăsească pipeta, dar rămân agățate de peretele interior de sticlă pentru totdeauna. Nu am vrut să cred acest lucru când colegul meu de muncă mi-a povestit o dată despre această problemă cu proiectul său. Dar a avut dreptate. Am adăugat odată *chaperone* la o *ribozimă* și ARN într-o eprubetă, iar reacția de clivare a fost accelerată nebunește, devenind de o mie de ori mai rapidă. Apoi, doctorandul a plecat într-o călătorie în lume, iar proiectul s-a blocat. Când s-a întors, am fost furios, deoarece rezultatele „sale” fuseseră publicate între timp în revista *Science* de Peter Dervan. Acesta observase același fenomen, dar îl publicase mai repede. Timpul contează! Am făcut un plan de urgență și am obținut o publicare și într-o revistă rezonabilă. Menționez acest lucru aici, pentru că nu m-am gândit niciodată la evoluție în timp ce făceam aceste experimente - deloc. Totuși, la începutul vieții, *ribozimele* ar fi putut primi exact acest tip de sprijin din partea aminoacizilor încărcați pozitiv, nu neapărat proteine întregi, iar reacția a fost accelerată - catalizată - de o mie de ori. Acest lucru ar fi putut accelera evoluția! Se presupune că aminoacizii sunt ușor de sintetizat în lumea prebiotică și ar fi putut exista de timpuriu. Alternativ, unii meteoriți i-ar fi putut furniza - spun unii, dar nu și eu. Aceste proteine fac parte dintre cele mai vechi și conservate de pe

planeta noastră și conțin adesea ioni de zinc, care se leagă de structuri speciale, numite „degete de zinc”, pentru a se lega de acizii nucleici și de elementele transpozabile. *Chaperonii* trebuie să fi ajutat la începutul sintezei proteinelor și al replicării retrovirușilor. Cine a învățat de la cine? Virușii de la celulă sau viceversa? Cred că virușii au fost inventatorii sintezei proteinelor, pe care apoi celulele le-au învăţat de la ei. Aceasta este părerea mea - cu câteva dovezi în plus.

De la cartof la ficat

După atâta istorie, poate fi relaxant să vorbim despre alimente. După cum am menționat anterior, există *viroizi* în multe plante, iar aceștia pot provoca boli ale plantelor. Ele sunt prezente și dăunătoare în alimente. Dar ele nu apar la oameni - așa credeau oamenii. Cu toate acestea, un singur *viroid* a scăpat. Nimeni nu știe de unde a apărut. Există *viroidul* tuberculului fusiform al cartofului (PSTVd), poate a fost prezent într-o farfurie de cartofi sau *viroizi* în castraveți sau roșii.

Acesta a ajuns în ficat în loc să treacă prin tractul gatrointestinal și să fie secretat în fecale. Se crede că *viroizii* sunt total inofensivi pentru noi - cu această singură excepție. ARN-ul *viroidului* trebuie să fi găsit un acces surprinzător la ficat în loc să ajungă în intestine pentru a fi eliminat. Acesta a devenit virusul hepatitei delta, HDV. John Taylor de la Fox Chase Cancer Center din Philadelphia, SUA, a investigat originea acestui virus și a propus această cale. Când s-a întâmplat acest lucru - acum sute de ani? Acest lucru este incert. HDV este un ribozom cu cap de ciocan activ din punct de vedere catalitic, unde ARN-ul poate fi aliniat - cel puțin pe hârtie - ca un cap de ciocan. ARN-ul este împachetat într-un strat proteic. Acest înveliș provine de la un alt virus hepatic, virusul hepatitei B, VHB. Astfel, învelișul este împrumutat și nu este autocodificat, ca în cazul tuturor celorlalte *viroizi*, care sunt toți ARNnc necodificatori. Cei doi „viruși” se replică împreună în ficat după ce s-au întâlnit acolo. Apoi, VHB furnizează VHD o parte din moleculele proteinei sale de acoperire - precum Sfântul Martin din legenda creștină, care și-a tăiat haina în două pentru a o împărți cu un om sărac, așa cum se poate vedea ilustrat în multe biserici gotice, cum ar fi Catedrala din Basel. Acest lucru are o consecință importantă, deoarece cu haina virusul poate forma particule și părăsi celula hepatică pentru a infecta alte celule sau chiar alte persoane, nu se mai deplasează doar în interiorul plantelor! Dacă oamenii sunt infectați în același timp cu cele două virusuri hepatice, HDV și HBV, consecința este o boală hepatică severă și cancer, cu o rată de mortalitate de 20%. Adesea, această combinație este asociată cu HIV, iar atunci pacientul este expus unui risc și mai mare. În Germania există 18 astfel de cazuri pe an, ceea ce, din fericire, reprezintă o rată scăzută și poate fi rezultatul acceptării pe scară largă a vaccinării împotriva virusului hepatitei B de către populație. Studiile privind *ribozimele* asemănătoare hepatitei D au indicat rude în bacterii, virusuri de insecte și drojdii, pe lângă plante. Cu toate acestea, nu a fost descoperită niciodată o a doua *ribozimă* asemănătoare HDV la om. Ce fac aceste *ribozime*? Cel puțin un astfel de *viroid* la om este o singularitate, iar aceasta este o veste bună, deoarece înseamnă că nu avem niciun motiv să refuzăm să mâncăm legume „sănătoase”. Există alte câteva tipuri foarte rare de *viroizi* în jur, de exemplu un retroviroid găsit nu în ficat, ci în florile de garoafă. Se numește *carnation small viroid*, CarSV. Transcriptaza inversă provine de la para retrovirusul garoafei, un virus vegetal, care copiază *ribozima* într-un ADN. Acesta dăunează florilor - nu uitați, bolile sunt în mod normal modul în care sunt descoperiți virușii. Poate că a existat un interes comercial din partea industriei garoafelor, care dorea să scape de garoafele bolnave - și a detectat un virus ciudat. Virusul florii și-a pierdut activitatea catalitică și nu mai poate cliva ARN-ul. Aceasta nu este nici măcar o degenerare rară a *viroizilor.* În funcție de mediu, acestea devin „leneșe” (își pierd activitatea catalitică), dar au nevoie de ajutor. În floare, precum și în ficat, are loc un fel de sinergie între două virusuri, un *viroid* și un retrovirus (care împart haina într-un caz și transcriptaza inversă în celălalt). De ce? În lumea virușilor, ca și în biologie în general, totul s-a dezvoltat prin încercări și erori. Sinergia, mutualismul, comportamentul social sau simbiozele sunt strategii de mare succes pentru toate entitățile vii, inclusiv pentru viruși.

Am întrebat la reuniuni dacă cineva a auzit de un retrofag. Cred că trebuie să fi existat - chiar și în cantități mari, înainte ca toți fagii ADN să se fi dezvoltat, probabil, din ARN și

intermediari retrovirali în cursul evoluției. Dacă există retroviroizi, de ce nu ar exista și retrofage? Într-adevăr, am găsit un singur (!) retrofag - cunoscut de mamele tinere. Acesta însoțește bacteria care provoacă o boală a tusei, *Bordetella pertussis*. Copiii mici se infectează și își sperie mamele. Retrofagul nu are nici măcar un nume! Transcriptaza inversă, cunoscută ca fiind predispusă la erori, permite fagului să găsească noi gazde. (Ea mută gena responsabilă de selectarea bacteriilor gazdă, numită tropism sau gama de gazde; gena este gena MTD, major-tropism-determinant).

Acest exemplu merită menționat deoarece arată cum găsesc virușii noi gazde: prin greșeli sau infidelitate sau neglijență din partea transcriptazei inverse. Acest lucru este bine cunoscut în cazul virusului HIV - care evadează de la un tip major de celule la începutul infecției pentru a trece ulterior la unul nou (numit CCR5 și CXCR4) și care suferă mutații mai repede decât poate răspunde sistemul imunitar.

Virusurile sunt motoare ale evoluției - la fel ca fagii bacteriilor. Virușii și fagii sunt înrudiți. Ar fi o concluzie riscantă dacă aș sugera că fagii ADN au început odată ca fagii ARN? Aruncați o privire la cap. 12, unde acest lucru este discutat pe baza ratelor de replicare. Atunci, fagii ARN sau retrofagii au devenit învechiți cu mult timp în urmă! Toată această poveste despre retrofagi este, din păcate, de puțin ajutor mamelor copiilor care tușesc.

Virusurile mozaicului tutunului

În urmă cu 30 de ani, când a fost înființată Societatea de Virusologie, în Germania nu exista niciun virusolog al plantelor care să fi putut deveni membru. *Viroidele* nu erau considerate virusuri! Prin urmare, cercetătorii din domeniul *viroidelor* au fost excluși. Acest lucru este cu atât mai surprinzător cu cât primul virus detectat a fost cel al plantelor, virusul mozaicului tutunului (TMV). Martinus Beijerinck a demonstrat în 1898 că scurgerile din frunzele bolnave de tutun conțineau agentul care infecta frunzele sănătoase. El a inventat cuvântul „virus” pentru a-l distinge de bacteriile mai mari. Întotdeauna a făcut referire la profesorul său Dmitri Ivanovsky din Rusia, care începuse aceste studii cu câțiva ani mai devreme, dar care crezuse întotdeauna în bacterii, nu într-un nou agent. TMV din interiorul celulelor arată ca o grămadă de copaci goi paraleli. Virusurile formează agregate paracristaline și arată un pic ca niște cristale. Structurile cristaline lungi au fost observate pentru prima dată de Helmut Ruska în 1930 cu ajutorul unui microscop electronic. Nu el, ci fratele său Ernst a primit Premiul Nobel mulți ani mai târziu pentru îmbunătățirea microscoapelor electronice prin utilizarea lentilelor magnetice în locul celor din sticlă. Institutul său din Berlin-Dahlem a fost construit pe straturi groase de beton pentru a-l feri de vibrațiile căii ferate subterane din apropiere. Virusul mozaic al tutunului se cristalizează aproape singur și reprezintă un exemplu de autoorganizare eficientă a virușilor. Pentru analiza structurală, Wendell M. Stanley din New York a fost distins cu Premiul Nobel în 1946.

El a arătat, de asemenea, că cristalele de virus sunt încă infecțioase chiar și după 40 de ani de uscare pe o suprafață - un exemplu interesant de materie cristalină „aproape moartă” cu activitate biologică. ARN-ul infecțios este localizat în interiorul structurii proteice rigide, unde este bine protejat. Unul dintre studenții lui Stanley a fost Rosalind Franklin. Ea a speculat că ARN-ul trebuie să fie în interiorul virusului, într-un canal din tija proteică elicoidală. Ea a avut dreptate: ARN-ul monocatenar este înconjurat în spirale de proteine. Mai târziu, ea a realizat „Fotografia 51”, imaginea cu raze X a structurii elicoidale a ADN-ului, fără să știe că imaginea ei a stat la baza modelului ADN-ului cu elice dublă.

Studiile lui Stanley au fost un semnal de alarmă pentru Adolf Butenandt, președintele de atunci al Societății Max Planck, pentru a stabili virologia ca un nou domeniu de cercetare în Germania. Existau institute Max Planck dedicate unor subiecte care nu păreau adecvate pentru a fi continuate după cel de-al Doilea Război Mondial. Unul dintre acestea a fost fostul „Kaiser Wilhelm Institute of Anthropology, Human Inheritance and Eugenics” din Berlin. Încă dețin un microscop pe care este gravat acest lucru! Institutul Max Planck pentru genetică moleculară a fost o continuare. Atunci a fost stabilită o nouă temă „genetica moleculară”. Heinz Schuster, întors din Pasadena în Germania, și Heinz-Gunther Wittmann, din Tubingen, au fost numiți directori. Amândoi efectuaseră

cercetări asupra virusului mozaicului tutunului și contribuiseră la identificarea materialului genetic - nu proteine, așa cum se presupunea la acea vreme, ci acidul nucleic, ARN-ul, lucru pe care îl demonstraseră prin studii de mutageneză cu nitrosamină. Este posibil ca aceste experimente să fi mutat și materialul genetic al cercetătorilor? Poate că nu au folosit, sau chiar nu aveau mănuși de unică folosință. Amândoi au murit de cancer la vârste destul de fragede. Schuster a fost diagnosticat ca având un cancer legat de muncă.

Virusul tutunului TMV a fost descoperit ca primul virus, deoarece este atât de răspândit și extrem de stabil. Acesta poate rezista 50 de ani în stare uscată și apoi poate fi reactivat și poate deveni din nou infecțios. La Berkeley, Heinz Fraenkel-Conrat a putut să dezmembreze virusul și să îl reconstituie ca virus infecțios - un experiment incredibil! Totul este atât de optimizat încât își poate reorganiza automat fragmentele - prin auto-organizare! Aceasta este o caracteristică importantă a lumii virusurilor. TMV a fost descoperit în plantele de tutun și a fost denumit după acestea, dar poate infecta aproximativ 350 de tipuri diferite de plante, astfel încât virusurile sunt denumite colectiv „tobamovirusuri”. Virusurile afectează în principal plantele cultivate, unde pot provoca daune grave. De ceva timp, s-a presupus că virusurile pot afecta doar plantele cultivate și nu pe cele sălbatice. Ce idee absurdă. Virușii sunt peste tot.

Virușii vegetali au „progresat” cumva în evoluție față de *viroizi*. Acestea nu mai sunt necodificatoare și goale, ci își produc propriile straturi din propriile gene. Acesta este ceea ce eu numesc progres! Nu prea știm de unde provine codul genetic. Poate că virușii l-au dezvoltat încercând totul, iar la un moment dat „s-a întâmplat pur și simplu”. Învelișurile protejează și sporesc mobilitatea. În timp ce *viroizii*, cu ncRNA-ul lor necodificator, sunt analfabeți, tobamovirusurile folosesc codul tripletelor pentru proteine. Într-adevăr, studiul virusului vegetal TMV a ajutat cercetătorii să înțeleagă tripletele, codul și aminoacizii corespunzători. TMV codifică patru proteine arhetipale, un set minim de instrumente ale unui virus: una pentru replicare, ARN polimeraza ARN-dependentă, „mama” tuturor enzimelor de replicare. O altă proteină este mantaua, iar o a treia favorizează deplasarea virusului de la o celulă la alta, proteina de mișcare. O a patra proteină este mică și susține polimeraza. Amintiți-vă că toate acestea pot fi realizate de *viroizii* incredibil de puternici fără nicio informație despre proteine - toate funcțiile sunt ascunse în secret în ARNnc necodificator.

Un ARNt în formă de frunză de trifoi formează capete protectoare pentru ARN-ul monocatenar TMV al virusului tutunului împotriva nucleazelor. Pentru mai multe informații, virusul tutunului utilizează un truc cunoscut de mulți viruși. Motto-ul este: faceți două proteine dintr-una singură, făcând o greșeală! Polimeraza efectuează o elongație „nelegitimă” a proteinei mici de la aminoacidul nr. 136 la nr. 186. Trucul se bazează pe „ignorarea” unui semnal de oprire. O singură nucleotidă este ignorată, rezultând o deplasare a codului tripletelor, un așa-numit *frameshift*. Apar două proteine cu începuturi identice, dar cu două finaluri diferite. Virușii sunt campionii mondiali în găsirea unor astfel de soluții minimaliste, iar aceasta este extrem de utilă: HIV utilizează același principiu pentru alungirea proteinei structurale **Gag** și un *frameshift* care duce la apariția proteinei **Gag-Pol** *read-through*. Ignorarea codonului de oprire se întâmplă în 1% din cazuri și nu numai că modifică lungimea proteinei, dar reduce automat și cantitatea celei mai lungi cu un factor de o sută. Cât de elegant!

O altă particularitate a tobamovirusurilor este stabilitatea lor genetică Acestea sunt virusuri ARN monocatenare și ar trebui să fie extrem de variabile. Nu, variabilitatea lor scăzută este în contrast puternic cu virusurile ARN tipice foarte variabile, cum ar fi gripa sau HIV. Motivul ar putea fi faptul că virusurile plantelor nu sunt autonome, ci mai degrabă dependente de plantă ca gazdă. Ei se adaptează la celulă în loc să scape prin variație, așa cum face HIV. Virusurile vegetale sunt persistente; supraviețuiesc în plante fără să formeze și să elibereze particule. Sunt foarte rezistente și pot tolera temperaturi de până la 90°C; pot supraviețui în seve sau pe suprafețe uscate, precum și în sol, în apă și chiar în nori! De asemenea, ele tolerează lumina UV, care în mod normal inactivează acizii nucleici - dar nu și virusul tutunului.

Chiar dacă planta gazdă moare, TMV poate exista într-o formă longevivă timp de mulți ani, mai mult de decenii. Ele „trăiesc” pe ceva mort! Apoi, când condițiile se îmbunătățesc, acestea pot

fi reactivate și pot deveni din nou infecțioase. Stabilitatea ridicată a tobamovirusurilor este un semn al robusteții virusurilor foarte vechi din punct de vedere evolutiv într-o lume ostilă. Se presupune că acestea reprezintă, împreună cu *viroizii*, cele mai vechi virusuri din punct de vedere evolutiv care există. Este posibil ca o lungă co-evoluție între virusuri și plante să le fi ținut departe de oameni, deoarece acestea nu pot funcționa în celulele mamiferelor și, prin urmare, nu provoacă boli la om. Virusul tutunului poate fi produs în cantități de un gram și a devenit aproape un fel de produs chimic; prin urmare, este foarte potrivit pentru scopuri de cercetare. În prezent, tijele TMV sunt testate pentru posibile aplicații ca cabluri în nanoelectronică sau ca contacte în baterii.

Tobamovirusurile au fost observate în agricultură ca agenți patogeni și au fost studiate ca atare - și mult prea puțin - pentru contribuția lor la ecosistemele sănătoase. Insectele, cum ar fi lăcustele, sau oamenii care fumează trabucuri pot răspândi virusul. Oamenii contribuie neintenționat la răspândirea virusului pe mâinile și instrumentele lor în timpul semănatului și grădinăritului. Tobamovirusurile provoacă pete pe frunze. Virusurile plantelor sunt lente și au perioade lungi de replicare. Virusologul Eckard Wimmer, de la Stony Brook din SUA, a menționat, atunci când a primit Medalia Robert Koch la Berlin, că a preferat să studieze poliovirusurile, deoarece virusurile vegetale erau prea lente pentru el. Un prieten din Elveția, în vârstă de 80 de ani, își amintea de producția manuală de trabucuri, numite „Baeumli-Stumpen” (trabucuri scurte și groase). Nu aveau voie să prezinte pete de culoare care să indice o infecție cu virusul tutunului. Ei foloseau chiar și pudră ca „machiaj” pentru exteriorul trabucurilor. Despre TMV, un virus al tutunului care provoacă „mozaicuri”, nu știa nimic - pur și simplu nu arăta bine pe trabucuri!

Viruși în „sosul chili” și în mărul meu

Virusurile vegetale trec prin stomac și intestine după ce am mâncat salată și sunt excretate în fecale. Virusurile vegetale precum TMV nu sunt la fel de goale ca *viroizii*, dar își protejează ARN-ul în tije proteice puternice. Aceste virusuri sunt virusuri „reale”, chiar și în cele mai conservatoare manuale de virologie. Numărul de virusuri vegetale pe care le consumăm într-o salată este de aproximativ 10^9 pe gram - un număr uriaș! Le consumăm și excretăm din nou aproape același număr. Cel mai surprinzător este că acestea sunt încă infecțioase după ce trec prin intestinele noastre și la excreție. Ele pot infecta din nou alte plante. Asta înseamnă că noi putem infecta plantele? Da, într-adevăr, în principiu, cu excepția faptului că plantele au dezvoltat unele măsuri de siguranță, cum ar fi copacii cu scoarța lor groasă. Virusurile au nevoie de insecte, nematode (viermi), ciuperci sau bacterii ca vectori (purtători), care pot pătrunde apoi în răni sau zgârieturi sau pot intra prin rădăcini. În California, precum și în Filipine, virusurile plantelor au fost identificate în scaunul uman: în principal, un virus al ardeiului, *pepper mild mottle virus*, PMMV. Acest virus persistent rămâne în plante și nu le părăsește niciodată. Sunt toți acești oameni fanatici ai piperului? Nu! Este suficient să mănânce sos de *chili* ca dressing, deoarece chiar și acolo, virusul piperului PMMV este prezent în forma sa infecțioasă. Virușii din Filipine sunt prezenți în sosul de salată din California! Nimeni nu se aștepta la asta. Virușii sunt inofensivi, indiferent de locul în care a fost produs sosul, chiar dacă au venit cu *chili* din Filipine. În orice caz, virusul trece în siguranță prin tractul nostru digestiv și poate ajunge să infecteze plantele de ardei. Acesta este specializat în plantele de ardei și nu se adaptează ușor. Asta este bine pentru noi! Virusuri mai degrabă excepționale sunt geminivirusurile. Numele amintește de navetele spațiale Gemini, două avioane cuplate împreună, în acest caz ambele părți fiind identice. Acești viruși sunt un fel de gemeni siamezi, constând din două icosaedre fuzionate care împart o parte. Fiecare dintre icosaedre găzduiește o moleculă circulară de ADN monocatenară. Firele nu sunt identice, dar sunt complementare. Dacă am pune ambele fire împreună, am obține un fir dublu. Firele par să se fi separat, iar fiecare își ocupă propria casă. Se pare că împachetarea a eșuat odată sau că divizarea a cauzat probleme. Rezultatul este un geminivirus. Cu siguranță face parte din colecția mea de virusuri curioase!

Numele său de familie este virusul „Begomo”, pentru virusul mozaicului auriu al fasolei, din care există aproximativ 200 de tipuri diferite. Acestea nu sunt rare, ci frecvente! Din nou, ele sunt cunoscute doar pentru că provoacă probleme. Acestea produc daune legumelor, vinetelor, fasolei,

tomatelor, manioculuiși bumbacului. Un virusolog din Filipine a evidențiat problemele cauzate de acești viruși pentru agricultori. În Africa de Sud, geminivirusurile sunt în centrul cercetărilor din cauza efectului lor dăunător asupra porumbului. Geminivirusurile sunt unice. În primul rând, viruşii ADN monocatenari sunt rari în plante, iar apoi acest intermediar ciudat - la jumătatea distanței dintre ADN monocatenar și ADN bicatenar - este curios. Virusurile ADN dublu-catenar sunt mult mai sigure, mai stabile - dar, în mod ciudat, ele nu apar aproape niciodată în plante. Acolo predomină virusurile ARN.

Geminivirusurile reprezintă un fel de tranziție sau intermediar între ADN dublu-catenar gol și ADN monocatenar, precum intermediarii opriți în straturile fuzionate. Acest lucru le face foarte informative și interesante pentru cercetare.

Este primul virus al cărui efect asupra plantelor a fost menționat vreodată: într-o poezie a reginei japoneze Koeken din 752, aceasta a observat că planta arăta uscată în mijlocul verii, în ciuda unei cantități suficiente de apă, ca un efect de toamnă prematură - geminivirusurile ca și cauză!

Merită menționat un virus ciudat pe care nici eu nu l-am cunoscut până de curând. Acesta este un ADN circular dublu-catenar gol (plasmidă), care poate infecta plantele. Inelele de ADN sunt agenți infecțioși desemnați ca fitoplasme (plasme de plante). ADN-ul plasmidic ne este cunoscut din lumea fagilor din bacterii, însă în plante este aproape necunoscut. Dar toată lumea cunoaște consecințele: Acestea duc la frunze de culoare galbenă și infectează pomii fructiferi, viile, orezul și palmierii. Ce indică frunzele galbene de pe mărul din grădina mea? L-am plantat gândindu-mă la Martin Luther, care a recomandat ca toată lumea, la fel ca el, chiar în ultima zi înainte de sfârșitul lumii, să planteze un măr. Al meu este acum bolnav. Ar trebui să comand un test de diagnostic extrem de sensibil, o reacție în lanț a polimerazei, o analiză PCR a ADN-ului? Și dacă o fac, ce se întâmplă atunci? Cu sau fără cunoașterea agentului infecțios, pulverizarea împotriva insectelor sau tăierea pomului pentru a o lua de la capăt sunt, în orice caz, singurele alternative. Nu am nevoie de un test PCR: nu se poate face nimic împotriva unui fitoplasm. În mod surprinzător, *fitoplasmele* cu ADN gol, asemănătoare virusurilor, îmi erau total necunoscute în calitate de virusolog. Dar sunt viruși! Am aflat despre ele de la un specialist în bioinformatică vegetală, Michael Kube, de la Institutul Max Planck din Berlin, și am devenit interesat. Am început să colaborăm la o analiză a genomului și chiar am publicat studiul nostru. Pe scurt, am aflat că *fitoplasmele* și geminivirusurile sunt înrudite, o „variantă fără adăpost” derivată din „locuitorii caselor semidecomandate”. Poate merită menționat faptul că aici a dispărut granița dintre bacterii, paraziți, elemente genetice, plasmide și virusuri - și toate acestea se întâmplă în mărul din grădina mea.

Tulipomania (lalelele): prima criză financiară provocată de un virus

Lalelele vărgate din grădina mea se încadrează, de asemenea, într-un capitol despre viruşii plantelor. Ele sunt imitații ale lalelelor de modă veche și sunt numite „Rembrandt-like” deoarece adevăratele lalele Rembrandt au dispărut. Acestea au fost reproduse prin mutații direcționate în promotorul genelor de culoare pentru a crea dungile și sunt stabile genetic. Nu este ceea ce s-a întâmplat în trecut.

Aceasta este ceea ce s-a întâmplat: Un coleg din fosta Germanie de Est mi-a vorbit despre lalelele cu dungi, mi-a spus că mama sa era entuziasmată de ele și că a cumpărat bulbi atunci când au fost la ofertă la piață, înainte de căderea Zidului Berlinului. Cu toate acestea, un an sau doi mai târziu, lalelele nu mai prezentau nicio dungă. S-a simțit păcălită și a dat vina pe guvernul comunist necinstit - deși a greșit făcând asta. Aceeași dezamăgire fusese deja provocată de lalelele cu dungi în secolul al XVII-lea.

Lalelele cu dungi au apărut inițial prin infectarea cu virusul ruperii lalelelor (TBV), care „distruge” culorile. Cum? Nici măcar în manualele de virusologie din zilele noastre nu există explicații reale. Au fost învinuiți grădinarii, serele, temperaturile, uneltele, solul, chiar și guvernul comunist, nimic din toate acestea nu este chiar greșit, dar răspunsul este pur și simplu că factorii de

mediu au cauzat dungile - și asta înseamnă efecte epigenetice. În 1576, botanistul Carolus Clusius recomandase deja factori de mediu stabili pentru a menține culorile dungate pentru progenituri.

Lalelele au ajuns în Europa din Persia, prin Turcia, de la Suleyman Magnificul (al cărui „turban" stă la baza numelui „lalea"), prin Viena până în Olanda, unde au fost cultivate de C. Clusius, care a înființat o grădină botanică în Leiden. Laleaua cu numele lui Clusius este acum secvențiată și vrem să aflăm cu ajutorul ei cum virusul lalelelor TBV poate distruge culorile.

Lalelele au devenit o pasiune pentru cei bogați. Erau inedite, unice, un simbol al vanității, dar și al forței și curajului masculin, iar ca floare regală transmiteau statut social. Acest lucru a mers atât de departe încât anatomistul, bărbatul cu pălărie dintr-un tablou celebru al lui Rembrandt, a adoptat numele de „Lalea", pentru a se remarca ca un cunoscător al lalelelor: „*Lecția de anatomie a doctorului Tulp*" (1632). Lalelele au provocat un val de isterie fără precedent și „tulipomania". Aceasta a fost prima criză financiară raportată vreodată. Cererea a depășit oferta. Olandezii deveniseră foarte bogați prin intermediul Companiei Indiilor Orientale. Bulbii au devenit atât de prețioși încât trebuiau protejați împotriva furtului și erau păziți în siguranță în grădinile oamenilor bogați. Nu numai aristocrații doreau să le dețină; și *hazarzii* au sărit pe cal, cumpărând bulbii în toamnă, fără să știe cum vor arăta lalelele în primăvară, dar sperând totuși la profituri mari. Cei care nu-și puteau permite lalele le-au pictat - pe care le putem admira și astăzi în picturile olandeze. Într-adevăr, prețurile la licitațiile de flori au explodat, crescând de o mie de ori din cauza speculațiilor. Culorile și modelele imprevizibile puteau duce la beneficii incredibile - sau la dezastre, dacă din bulbi ieșeau lalele monocolore. Virusul a fost într-adevăr cauza bulei lalelelor, deoarece virusul a fost cel care a provocat modelele imprevizibile. Dar nimeni nu știa acest lucru, desigur.

Cea mai frumoasă lalea, *Semper Augustus* - albă cu fulgi și dungi roșii ca sângele pe partea exterioară a petalelor și strălucire albastră din exterior, a dispărut. Dacă începem să o cultivăm din bulbi (care sunt întotdeauna lipsiți de virusuri), este monocoloră - iar infecțiile virale nu au mai generat de atunci dungile dorite. Doar o duzină de exemplare din această lalea extrem de râvnită au existat vreodată. Infecția cu virusul TBV nu a fost letală în mod normal și a dus la apariția a peste 1 500 de tipuri diferite de lalele, o varietate nemaiîntâlnită pentru nicio altă floare. O dublă infecție cu un al doilea virus, un virus al marmorării crinilor, provoacă moartea. Toate experiențele cunoscute de încrucișare a plantelor au eșuat, iar rezultatul a fost un pariu. La apogeul maniei, lalelele puteau ajunge la prețul unei case. *Semper Augustus* a costat 10 000 de guldeni olandezi; prin comparație, Rembrandt a primit doar 1 600 de guldeni pentru cele mai faimoase picturi ale sale.

Într-o zi, pe 9 februarie 1637, nicio lalea nu a fost vândută la o licitație, ceea ce a declanșat prăbușirea financiară. O casă pentru o lalea - aceasta poate fi numită prima bulă financiară, urmată de prăbușirea pieței bursiere. Prețurile s-au prăbușit și au lăsat mulți investitori fără bani, cu datorii uriașe. Guvernul a solicitat ca părțile să ajungă la un compromis fără a apela la instanță și ca, pe viitor, să se plătească în avans doar avansuri parțiale, nu întregul preț, pentru a reduce riscul și a preveni falimentul. Motivul prăbușirii pieței nu este cunoscut cu exactitate; este posibil ca ciuma bubonică să fi contribuit la aceasta, deoarece oamenii stăteau departe de o epidemie. Ciuma a făcut ravagii în Europa în această perioadă, coincizând cu Războiul de treizeci de ani, și a ucis milioane de oameni. Sau izbucnirea războiului suedezo-prusac, care a distrus speranțele de a exporta lalelele de acolo.

Lalelele cu dungi sunt folosite drept coperte ale cărților de virusologie, ca motive atractive pe paginile de titlu. Virusul care provoacă dungi este înrudit cu virusul mozaic al tutunului discutat mai sus, dar aspectul imprevizibil al petalelor, care nu respectă nicio regulă cunoscută de genetică sau de ameliorare, seamănă cu rezultatele genelor săritoare, care au fost descoperite ulterior la porumb ca o caracteristică a epigeneticii. Legătura sa cu dungile de pe lalele nu este încă dovedită. Cu toate acestea, deja în 1576, Carolus Clusius a descris efectele mediului asupra modificărilor fenotipului! Iată-ne, 350 de ani mai târziu, studiind epigenetica cauzată de factorii de mediu. Privită în acest fel, epigenetica nu a fost descoperită de McClintock în jurul anului 1950, ci de Clusius - în jurul anului 1576! Aceasta este concluzia și speculația mea și, pentru a afla, am început recent un proiect de cercetare privind epigenetica lalelelor vărgate.

Lalelele sunt dificil de analizat prin secvențierea genomului deoarece au genomul aproape cel mai mare cunoscut, de 10 ori mai mare decât al nostru: 30 de miliarde de perechi de baze (noi avem doar 3,2 miliarde). Cu toate acestea, totalul informațiilor genetice este mai mic decât în genomurile noastre (deci lalelele nu sunt mai inteligente decât noi!) și este plin de repetiții. Lalelele au cam trei cromozomi, trei genomuri similare. În viitorul meu nou proiect de cercetare, caut o omologie de secvență între virusul lalelelor și genele culorii lalelelor - cel puțin 12 gene sunt implicate în sinteza culorii *antocianina*. O homologie de secvență poate duce la „reducerea la tăcere” a genelor de culoare în anumite etape ale dezvoltării lalelelor, iar efectele dozei pot varia intensitatea culorii. Studiile epigenetice asupra lalelelor dungate seamănă cu studiile epigenetice ale Barbarei McClintoclcs asupra porumbului colorat. Va fi dificil, cu toate repetițiile genetice. Lalelele pot pierde cu ușurință jumătate din genomul lor, fără nicio problemă! Multe plante cultivate au genomuri uriașe și repetitive porumb, grâu, cartofi, aceasta este probabil o consecință a ameliorării, cel puțin în unele cazuri.

Lalelele sunt prezente în majoritatea magnificelor picturi florale olandeze din secolul al XVII-lea. În timpul unui tur ghidat prin Muzeul de Artă din Zurich, curatorul a menționat că numărul de lalele prezente într-un buchet de flori poate fi folosit pentru a data picturile în raport cu criza lalelelor: după criză au fost pictate mult mai multe lalele cu dungi decât înainte.

Celebrul matematician britanic Alan Turing, care a descifrat codul ENIGMA al submarinelor germane în timpul celui de-al Doilea Război Mondial, a descris matematica care conduce la dungi. Aceasta a fost permisă să fie publicată abia mult după moartea sa și este cunoscută sub numele de „mecanismul Turing”, valabil pentru dungile din zebre, pești, modele de girafe, tigri - și cu siguranță pentru lalele. Doi „morfogeni” sau substanțe chimice, un activator și un inhibitor cu rază lungă de acțiune interacționează, dar nu știu care dintre cei doi este virusul!

Bancnota de 500 de mărci germane cu MS Merian

Una dintre primele artiste care a pictat lalelele vărgate a fost Maria Sibylla Merian (1647-1717), care se bucură de cea mai mare admirație și respect din partea mea. O lalea aproape a băgat-o în închisoare; ea furase mai multe lalele de la ducele Ruitmer, care locuia lângă atelierul fraților ei mai mari și casa ei din Frankfurt. Familia Merian era celebră pentru gravurile a mii de orașe europene, *Topographia Germaniae* (1642), documente foarte importante ale structurilor orașelor medievale. Era atât de entuziasmată de culorile lalelelor încât a furat florile pentru a le desena în secret. Ducele Ruitmer a fost impresionat nu numai de fata de paisprezece ani (care se simțea foarte vinovată), ci și de picturile ei superbe, așa că a iertat-o - ar fi putut merge la închisoare pentru furt. Închisoare ca urmare a unei frumuseți florale induse de un virus!

În plus, a preluat și educația ei și i-a plătit pentru a deveni pictoriță - un privilegiu al bărbaților în acele vremuri și un proiect care nu a fost primit cu entuziasm de frații ei mai mari. Pasiunea ei pentru omizi și fluturi a transformat-o într-un obiect de suspiciune pentru contemporanii ei și aproape că și-a sfârșit viața ca vrăjitoare pe rug - fratele ei a împiedicat acest lucru prin mită, dar tot a fost obligată să părăsească orașul.

Lalea dungată cauzată de virusul ruperii lalelelor și bancnotă de 500 de mărci germane cu plantă, omidă și fluture și un fel de „virus” de Maria Sibylla Merian.

Pe una dintre fețele vechilor bancnote de 500 de mărci germane, dintre care una am păstrat-o, M.S. Merian este reprezentată cu părul creț, iar pe cealaltă parte este reprezentat un fel de grâu cu dinți de leu, alături de un fluture și o omidă. Combinarea acestor trei elemente, legate între ele prin metamorfoză și hrană, a fost realizarea ei științifică. În timpul vieții sale, contemporanii ei credeau în gaze și miasme. Iar mama ei își făcea griji cu privire la modalitatea de a o mărita pe fiica ei, cu predilecția ei pentru viermii din bucătărie. A fost, de asemenea, un maestru al gravurilor. A învățat această tehnică de la frații ei mai mari, celebri. Femeilor le era interzis să folosească uleiul și pânza. Dacă ne uităm cu atenție la bancnota de 500 de mărci germane, putem vedea frunze încrețite - poate că sunt bolnave de viruși! Atât de precisă era observația ei. Totuși, nu știu ce să cred despre structura de tip icosaedru din colțul din dreapta sus. Mi se pare o secțiune a unui virus icosaedric! Sau poate este un filigran, pentru a proteja posesorul împotriva bancnotelor falsificate? Într-adevăr, fluturii și omizile pe care le-a pictat sunt pline de viruși, cum ar fi poli-DNA-virusul PDV (despre care s-a vorbit la capitolul 5, despre viespe). Cu meticulozitate și corectitudine științifică, ea a realizat imagini ale bolilor lalelelor cu dungi de acum 370 de ani. A supraviețuit unei expediții în colonia olandeză Surinam din America de Sud, unde a riscat foarte mult pentru a prinde fluturi exotici și unde a luat malarie. I-a plătit pe băștinași să-i aducă fluturi și gândaci rari - și nu a observat că au înșelat-o atașând un cap greșit unui corp. L-a desenat și a fost tipărit - spre disperarea ei, pentru că a ajuns prea târziu pentru a corecta eroarea. Prin desenele și gravurile sale, ea a adus în atenția europenilor lumea plantelor și animalelor din America de Sud. Petru cel Mare, din Sankt Petersburg, a cumpărat câteva dintre originalele ei și le-a plătit în ziua morții ei. O navă de cercetare germană poartă acum numele ei. Pentru o lungă perioadă de timp, nimeni nu și-a amintit de ea. A fost un om de știință excelent și un artist excepțional și nu știu ce admir mai mult.

Cei care vor să se amuze pe seama dungilor pot citi: „Cum leopardul își ia petele”. Nu, nu de povestitorul grec antic Esop, ci de J.D. Murray (a se vedea referințele).

9. Virușii și apărarea antivirală

Apărare rapidă și lentă

Aproape în fiecare sâmbătă, Jean Lindenmann, predecesorul meu, venea la Institutul de Virusologie Medicală din Zurich pentru micul dejun. În vârstă de peste 80 de ani, se întâlnea cu foștii săi colegi și cu tehnicianul său - care pe atunci avea peste 90 de ani, dar încă aducea prăjituri de casă și povestea despre recentele sale călătorii la schi în Norvegia! Femeile elveţiene sunt printre cele mai în vârstă din lume! Lindenmann nu vorbea niciodată despre trecut, dar era curios cu privire la cercetările în curs și la noile rezultate. Era un scriitor talentat și publica adesea articole în NZZ (Neue Zürcher Zeitung). De asemenea, atunci când era onorat de Societatea de Virusologie cu un premiu pentru realizările sale de o viață, propunea întrebări deschise și subiecte de cercetare audienței, majoritatea tineri studenți sau postdoctoranzi. Multe întrebări despre *interferon* sunt încă nerezolvate - el l-a descoperit. A privit înainte, nu înapoi. Modestia sa îl deosebea de mulți colegi contemporani.

Jean Lindenmann a descoperit *interferonul* împreună cu supervizorul său de atunci, Alick Isaacs, în 1957, în Anglia, printr-un experiment simplu: celulele infectate cu virusuri gripale secretau „ceva” în *mediul*, care proteja celulele sănătoase de infecția virală. În mediu era prezent un factor, un transmițător sau o *citokină*, care interfera cu infecția virală asupra celulelor naive și care a fost denumit „*interferon*”. Acesta este produs doar în cantități foarte mici, astfel încât a fost dificil să fie izolat din mediul de cultură și caracterizat. Multe decenii mai târziu, interferonul a fost, pe baza unei propuneri a lui Lindenmann, secvențiat de Charles Weissmann, care lucra pe atunci la compania biotehnologică Biogen din Geneva, prima companie de acest gen, la care Weissmann era cofondator. A început o competiție cu alte grupuri cu privire la cine va determina primul secvența. Weissmann împreună cu colegii săi au câștigat „cursa” în ajunul Crăciunului din 1980.

Secvența a constituit baza pentru producerea unui *interferon* recombinant, rIFN, care putea fi produs ulterior în cantități mari în bacterii sau celule. Aceasta era o terapie nouă, dar nimeni nu știa cu ce boală să o trateze. Îmi amintesc titlul unui ziar: „În căutarea unei boli”. Doar împotriva virusurilor gripale? Astăzi, medicamentul este utilizat pentru a trata infecțiile cronice cu virusurile hepatitei B și C și cancerul de ficat, scleroza multiplă, limfoamele, leucemiile, melanomul malign, artrita cronică - un tratament standard, disponibil în fiecare spital. Surprinzător, *interferonul* este eficient nu numai împotriva virușilor, ci și împotriva cancerului. Alături de colegul său elveţian Rolf Zinkernagel și de imunologul australian Peter C. Doherty, Lindenmann ar fi putut fi inclus în Premiul Nobel ca numărul trei în anul 1996. Zinkernagel a ținut prelegeri publice în 2015 despre „Cum să câștigi un premiu Nobel” - așteptați un telefon! Sunt sigur că acesta nu era stilul lui Lindenmann. Nu cunosc nicio persoană atât de timidă și modestă cum era el. Modestia nu este criteriul de supraviețuire al celor mai puternici în publicitate, nici măcar în cercetare.

Interferonii, dintre care există mai mulți, sunt gardienii celulei împotriva infecțiilor virale și bacteriene și au, de asemenea, un efect antiproliferativ care poate inhiba diviziunea celulelor tumorale. Efectul antiviral nu este limitat la un singur virus. Efectul este mai general. Un virus care conține ARN trebuie să treacă prin formarea tranzitorie a unui ARN dublu-catenar ca intermediar. Aceasta induce sistemul interferon. Celula infectată pornește un sistem de alarmă, secretă *interferon*, IFN ca moleculă de semnal și avertizează celulele vecine. (Acolo, o cascadă de semnale, denumită calea „JAK-STAT”, activează genele de răspuns la *intetferon*. O pereche de foarfece moleculare - o caracteristică a tuturor sistemelor imunitare - RNase L, distruge ARN-ul viral și pune capăt replicării virușilor). Acest lucru salvează populația celulară și doar prima celulă este pierdută, în timp ce celelalte se pregătesc pentru apărare, o sincronizare excelentă! Această apărare aparține sistemului imunitar înnăscut al unui organism. Cu toate acestea, o apărare antivirală nu ar ajuta

împotriva cancerului fără virus. Acolo, sistemul de *interferon* urmează un alt principiu, prin activarea „celulelor ucigașe naturale” (NKC), care recunosc structuri de suprafață specifice pe celulele tumorale și sunt imediat gata să le elimine. Un singur compus împotriva diverselor virusuri, precum și împotriva diferitelor tipuri de cancer - asta este unic în medicină. (Vaccinul împotriva virusului hepatitei HBV conceput de Maurice Hilleman la Merck Co. protejează împotriva virusului și a cancerului hepatic, dar este specific aceluiași virus în ambele cazuri). Pe lângă sistemul nostru imunitar înnăscut, avem un al doilea sistem, sistemul imunitar adaptiv sau dobândit, care duce la producerea de anticorpi specifici, imunoglobulinele. Anticorpii sunt foarte specifici și recunosc proteine (antigene), care sunt expuse de celulele prezentatoare de anticorpi, indiferent dacă antigenele provin de la viruși sau de la celule. Legătura dintre antigen și anticorp face parte dintre cele mai puternice interacțiuni cunoscute în biologie. Există aproximativ 1 000 de gene disponibile pentru producerea de anticorpi. Cu toate acestea, prin efecte combinatorii, acestea pot ajunge la 2,6 milioane de anticorpi diferiți și, prin mutații suplimentare, până la miliarde. Un sistem de amplificare atât de eficient este de necrezut. Diversitatea segmentelor de ADN se bazează pe sistemul „taie și lipește” al transpozonilor lui McClintock și al boabelor de porumb colorate, pe care le-am menționat deja (cap. 7). Diversitatea anticorpilor este într-adevăr legată prin evoluție de genele săritoare și a apărut din elemente transpozabile. Transpozonii sunt rude îndepărtate ale virușilor, care furnizează enzimele necesare pentru „tăiat și lipit”: foarfece moleculare, enzime pentru clivare, transpozase. Acest lucru trebuie să sune cunoscut cititorului atent: sistemul nostru imunitar este generat de viruși! Într-adevăr, în sistemul imunitar sunt prezente aceleași enzime ca și în virusuri; pur și simplu au denumiri diferite, deoarece inițial nimeni nu a recunoscut relația dintre transpozoni, retrovirusuri și sistemul imunitar.

Sistemul imunitar este îndreptat nu numai împotriva virușilor, ci și împotriva oricărui alt antigen „străin”. Această dezvoltare a avut nevoie de milioane de ani pentru a evolua. Sistemul nostru imunitar deosebit de complicat derivă în cele din urmă din elemente virale. În principiu, este foarte ușor de înțeles că virușii înșiși au contribuit la apărarea antivirală. La urma urmei, ei intră într-o celulă cu propriul lor set de gene, le furnizează celulei și, în mod normal, împiedică alți viruși să intre în celulă în același timp, până când își termină replicarea. Nu există suficiente resurse celulare pentru producerea unui număr mare de progenituri pentru mai mult de un virus care intră. În plus, elementele retrovirale sunt deja integrate în genomul gazdei; ele sunt foarte versatile și se pot schimba rapid. Ele sunt prezente ca gene suplimentare. Virusul infectant este imediat apărarea imunitară a celulei după intrarea virusului. În cazul retrovirușilor, pasul de la infecție la apărarea antivirală este minim, deoarece virusurile se integrează și devin parte a celulei. Acesta este un mecanism simplu de feedback negativ. Le datorăm virușilor creditul pentru apărarea noastră antivirală, un exemplu impresionant. De când? În urmă cu 800 de milioane de ani (anticorpii apar prin recombinarea genelor imunoglobulinelor, descrisă ca recombinarea V(D)J, cu V de la variabilă, D de la diversificare și J de la îmbinare). Foarfecele molecular necesar pentru recombinări sunt molecule (RAG-1 și -2, gene de activare a recombinării), care au evoluat din transpozoni, iar foarfecele sunt înrudite cu cele menționate în mod repetat, cu o triadă tipică de trei aminoacizi, DDE, în centrul lor activ, la fel ca în foarfecele molecular retrovirial RNase H). În cel mai bun caz, anticorpii se leagă de suprafața virală și neutralizează virusul, astfel încât acesta nu mai poate infecta gazda. Există vaccinuri neutralizante împotriva virusurilor variolei, poliomielitei, rujeolei, turbării și oreionului și, într-o anumită măsură, împotriva virusurilor gripale. Aparent, un vaccin împotriva uneia dintre cele patru tulpini de Ebola și-a arătat recent unele efecte. Majoritatea vaccinurilor au fost produse inițial fără a se cunoaște biologia moleculară a virușilor. Virușii uciși erau injectați în oameni pentru a activa un răspuns imun. Acest lucru a avut adesea succes, dar nu și în cazul HIV. Acesta este pur și simplu prea variabil. Cercetările de specialitate în domeniul biologiei moleculare sunt acum în plină desfășurare - după zeci de ani, ar putea apărea acum ceva speranțe. Ne dorim un vaccin împotriva HIV, deoarece istoria ne-a învățat că un vaccin este cel mai bun mijloc de a combate o infecție virală.

Răspunsurile imunitare pot dura o viață întreagă, dacă sunt produse celule de memorie. Acestea sunt atunci deja programate și nu au nevoie de rearanjări genetice consumatoare de timp

(*cut-and-paste*), ci se pot multiplica imediat și, prin urmare, reacționează rapid atunci când apare un antigen cunoscut. Sistemul nostru imunitar are o reacție înnăscută, rapidă, dar nespecifică, pe de o parte, și o a doua reacție imunologică adaptivă, lentă, foarte specifică, pe de altă parte. Reacția rapidă, imprecisă, este probabil cea mai veche. Noi nu observăm nimic atâta timp cât suntem sănătoși. Cu toate acestea, dacă sistemul imunitar este defect, ca în cazul „copiilor ADA" imunodeficienți, aceștia trebuie să trăiască într-un cort fără germeni pentru a nu fi infectați de microbi sau viruși. De asemenea, transplanturile de organe pot eșua din cauza respingerii țesutului sau a celulelor străine de către apărarea imunitară, astfel încât receptorul are nevoie de imunosupresie pentru a fi acceptat. În cazul HIV, virusul infectează celulele imunitare, esențiale pentru apărarea noastră imunitară. Limfocitele T joacă cel mai important rol în apărarea imună adaptivă și tocmai aceste celule sunt distruse de HIV. Acest lucru duce la suprimarea imunității și la SIDA.

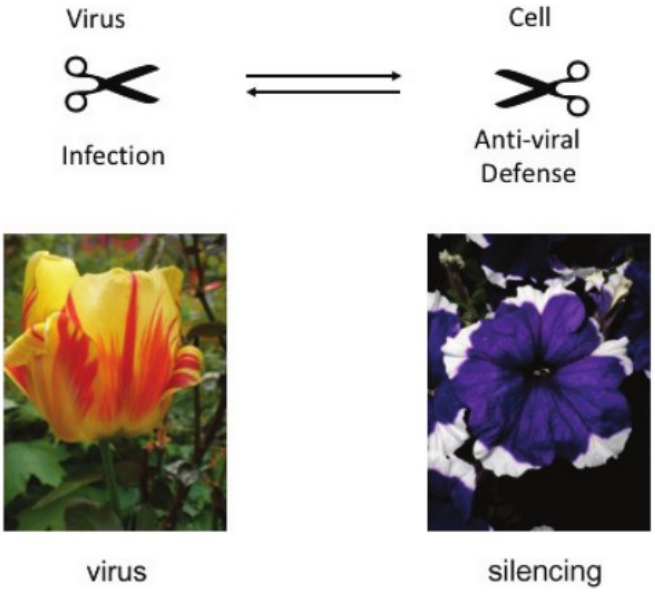
Un comentariu poate fi permis: Sistemul nostru imunitar are asemănări cu procesele noastre decizionale, cred eu. Avem curajul pentru ceea ce se numește „*gut feeling*": decizii rapide, aproape nereflectate, care protejează inițial împotriva pericolelor care amenință viața și declanșează reflexele de zbor, spre deosebire de deciziile creierului, care se bazează pe fapte și evaluarea „pro și contra" - acestea sunt mai specifice și necesită mai mult timp. Și avem amintiri în creier, la fel ca sistemul imunitar. Aceste analogii sunt oarecum surprinzătoare pentru mine. Un titlu de carte spune *Thinking, Fast and Slow* (de Daniel Kahneman) - nimic despre răspunsurile imune, desigur. Cu toate acestea, nu am auzit niciodată nimic despre aportul transpozonilor la procesul nostru decizional. Se știe că LINE-urile sar în timpul embriogenezei în celulele creierului nostru și pot duce la diversitate. Genele săritoare ne influențează deciziile?

Genele silențioase nu dau culoare

Culorile ne permit să „vedem" efectele genetice. Acest lucru a început cu Gregor Mendel, care a detectat un principiu genetic observând culorile mazării înflorite, din care și-a derivat legile. Barbara McClintock a detectat un principiu epigenetic analizând culorile porumbului. Dungile lalelelor indică viruși și efecte epigenetice. Culorile sunt minunate, deoarece ne permit să vedem cu ochiul liber cursul unei genetici foarte complicate. Există o urmare: un virus schimbă culoarea gazdelor sale, iar apărarea antivirală a gazdei duce, de asemenea, la schimbări ale culorii gazdei. Un bun exemplu pentru o astfel de apărare sunt petuniile violete care ne decorează balcoanele vara, care prezintă adesea modele albe simetrice. Acolo unde floarea este albă, culoarea a dispărut. Modelele albe simetrice indică faptul că pierderea culorilor trebuie să fi avut loc devreme în timpul dezvoltării capitulului floral. Aceste modele provin din apărarea plantei împotriva virușilor. „Fără culoare" înseamnă «fără expresie a genei de culoare», ceea ce indică faptul că o genă de culoare a fost oprită; oamenii de știință numesc acest lucru «*silencing*». Acest cuvânt nu se potrivește bine, deoarece nu un zgomot, ci mai degrabă o culoare, este oprită. (*Silențierea* are loc prin două mecanisme: silențierea transcripțională a genei TGS și silențierea post-transcripțională a genei PTGS - două moduri în care poate avea loc *silențierea*, dar rezultatul net este același, fără culoare.

Transcripția ARN-ului este blocată sau ARN-ul este scindat). Amortizorul este „siARN", care înseamnă ARN amortizor sau ARN „interferant mic". Denumirea amintește de interferonul menționat mai sus, și pe bună dreptate, deoarece mecanismele sunt înrudite. Dacă ARNsi atinge o genă de culoare sau promotorul unei gene de culoare, se poate observa efectul de *silențiere*, pierderea culorii. Un rezultat simplu; totuși, mecanismul molecular din spatele acestuia este destul de complicat. Efectul de reducere la tăcere poate afecta orice genă, o genă de culoare fiind doar una dintre multele care pot fi afectate. Virușii care intră pot fi, de asemenea, reduși la tăcere. David Baulcombe din Anglia a fost cel care a descris *silențierea* genelor la plante, dar genetica plantelor este un subiect foarte dificil, pe care mulți nu l-au înțeles. McClintock, de asemenea, a experimentat acest lucru cu studiile sale privind culorile porumbului, pe care nimeni nu le-a înțeles. *Silențierea* genelor ca apărare imunitară a fost studiată în detaliu la viermele *C. elegans*; acest lucru a dus la acordarea Premiului Nobel lui Andrew Z. Fire și Craig C. Mellow în 2006, fără Baulcombe. De

atunci, reducerea la tăcere a genelor a devenit unul dintre experimentele preferate şi cele mai informative care pot fi efectuate în laborator. Ori de câte ori se doreşte dovedirea funcţiei unei gene, nu există nimic mai bun decât să o eliminăm - să o reducem la tăcere - şi să vedem ce se întâmplă fără gena respectivă: Termenul tehnic este „pierdere de funcţie”. Aceasta a devenit în prezent o procedură standard în toate laboratoarele. Multe universităţi oferă chiar unităţi de servicii pentru eliminarea genelor prin contract. Nu este nevoie să te gândeşti la sistemele imunitare şi la apărarea antivirală - trebuie doar să comanzi de la o companie un retrovirus cu o anumită secvenţă, pentru a produce siARN-ul de *silenţiere* dorit. Apoi se poate utiliza un vector viral pentru a inactiva o anumită genă şi a vedea ce se întâmplă. Este mai sigur să vorbim de *knock-down*, deoarece genele nu sunt adesea complet dezactivate. Uneori, o genă falsă este inactivată de un aşa-numit efect „*off-target*”, ceea ce reprezintă o altă capcană. Două grupuri au efectuat odată experimente de *knock-out* folosind celule infectate cu HIV şi au obţinut rezultate foarte diferite. Prin urmare, metoda trebuie încă standardizată şi îmbunătăţită.



Virusul şi celula utilizează acelaşi set de instrumente, cum ar fi foarfecele moleculare pentru infecţia virală (lalea cu dungi) şi pentru apărarea antivirală a celulei (modelul alb prin silenţiere).

Am efectuat un experiment de reducere la tăcere după o petrecere de Crăciun la casa din Zürich a lui Tobi Delbrück (fiul lui Max). Colegii doreau să afle ce face păsările să cânte, iar în laboratorul nostru de siguranţă am ajutat la pregătirea virusului pentru **siARN**-uri ale diferitelor gene. Am testat ce genă a dus la reducerea la tăcere a păsărilor. Printre acestea s-a numărat „factorul de transcripţie asemănător FoxP2”, care influenţează capacitatea oamenilor de a vorbi. Vom afla ce genă împiedică sau permite cântecul păsărilor.

Silenţierea genelor în viermele *C. elegans* poate fi realizată prin hrănirea acestora. Viermii pot mânca **siARN**-ul reducător la tăcere ca pe un aliment. Am folosit **siRNA** sintetic şi l-am picurat pe placa de cultură. În natură, viermii secretă **siARN**-uri silenţioase ca semnale de apărare antivirală, pentru a avertiza alţi viermi din populaţie. Multe râme populează solul şi, împreună, se comportă aproape ca un singur organism, astfel încât difuzarea **siARN**-ului silenţios este suficientă. Acest semnal secretat seamănă cu interferonul, care, de asemenea, părăseşte o celulă în pericol şi avertizează celulele vecine în legătură cu invadatorii. Într-adevăr, sistemul interferon şi sistemul de silenţiere **siARN** au unele asemănări, mecanisme similare în lumea ARN şi în lumea proteinelor!

SiARN secretat există la filare (viermi), ciuperci, plante şi chiar la mamifere, unde l-am găsit (spre surprinderea noastră, dar este slab şi dominat de alte sisteme imunitare). Viermii sunt surprinzători. Ei au dus la descoperirea **siARN**-ului silenţios antiviral, dar niciun virus nu a fost detectat în aceşti viermi. Sunt toţi virusii lor „reduşi la tăcere” pentru totdeauna? Viermii ar fi atunci singurul sistem biologic de pe planeta noastră fără virus. Recent, în Franţa, a fost descoperit un virus al *C. elegans*, virusul Orsay, în livezile din apropiere de Paris. Cu toate acestea, după cum s-a

dovedit, viermii erau o specie de laborator şi aveau un sistem imunitar defectuos, astfel încât nu aveau un sistem de apărare cu **siARN** de reducere la tăcere. Numai aşa virusul putea intra în vierme şi se putea replica. În mod normal, toţi viruşii sunt ţinuţi departe în prezent. Cu toate acestea, în celulele germinale ale acestor viermi există elemente transpozabile asemănătoare virusurilor, aproximativ 12 %, în principal transpozoni ADN. Se presupune că acestea provin din infecţii anterioare, deci viermii trebuie să fi întâlnit şi integrat viruşi înainte. Este posibil ca acestea să ţină acum la distanţă alţi viruşi. Nu prea cred în această pretinsă „excepţie unică": viermii sunt singura specie de pe Pământ fără viruşi? Este posibil să nu mai existe viruşi în prezent sau viruşi pe care nu îi cunoaştem încă. Sunt necesare unele cercetări în acest sens. Livada din Paris este o casă interesantă pentru *C. elegans* şi i-a făcut dependenţi de alcool prin consumul de mere stricate. Acest lucru merită reţinut deoarece va conduce la o mare surpriză în ultimul capitol (cap. 12).

Unul dintre colaboratorii mei, Alex Matskevich din Moscova, a descoperit că noi, oamenii, avem încă un sistem slab de *silenţiere* a **siARN** în celulele noastre. Acest lucru este destul de neaşteptat, deoarece avem sisteme imunitare „mai bune", bine dezvoltate, după cum am menţionat chiar mai sus: interferoni şi imunoglobuline. Micul ARN „interferent", **siARN** poartă aproape acelaşi nume ca „interferonul" - în mod corect. Acesta există, dar este slab, eclipsat de cele mai puternice. (Pentru a demonstra un sistem **siARN** silenţios la om, Alex a trebuit mai întâi să „reducă la tăcere" sistemul interferon. Apoi virusurile gripale s-au replicat de patru ori mai bine).

Am publicat această surpriză. Opt ani mai târziu, un coleg a publicat acelaşi rezultat, ignorând „absent" rezultatele noastre, în speranţa că revizorii nu vor observa. Într-adevăr, nu au observat. Cât de des se poate scăpa cu asta, ne va arăta viitorul. (Într-adevăr, el are probleme acum pentru alte fapte „uitate").

Am observat odată că nu numai foarfecele, ci şi un întreg set de instrumente - format din 12 componente în total - era identic între virus şi sistemul de *silenţiere* pentru apărarea antivirală. I-am menţionat lui J.D. Watson asemănările izbitoare în timpul unui simpozion la Cold Spring Harbor în 2007. Tocmai se publicase structura foarfecelor de apărare pe prima copertă a revistei *Nature*, care demonstra asemănările dintre foarfecele virale şi cele antivirale (RNase H şi PIWI). El a fost imediat convins de observaţia mea privind similitudinile dintre viruşi şi apărarea antivirală. El a văzut implicaţiile şi a spus spontan: „Trimiteţi un manuscris, voi vorbi cu Bruce". Se referea la Bruce Stillman, succesorul său ca şef de laborator. Într-adevăr, Watson a vorbit cu el în aceeaşi zi, iar în dimineaţa următoare Bruce mi-a acceptat manuscrisul pentru prestigiosul volum *Symposium*. Ce frumos! Niciodată un manuscris de-al meu nu fusese acceptat atât de repede - în mod normal, o invitaţie personală ar fi fost necesară cu mult timp înainte. Cel mai bun dintre toate, nu am efectuat niciun experiment, ci doar o comparaţie. Şi nici măcar nu redactasem încă manuscrisul.

Ce bine şi pentru cititor - este atât de uşor: viruşii şi apărarea antivirală sunt strâns legate. Cine a învăţat de la cine? (Eu cred că viruşii sunt inventatorii.) Interesant, nu se poate deduce cu uşurinţă relaţia dintre două perechi de foarfece din secvenţele lor genetice, ci mai degrabă din structurile lor. Acest lucru nu este chiar adevărat, deoarece există câteva legături formatoare de structuri formate de trei aminoacizi tipici conservaţi (D, D, E), care sunt însă greu de găsit printre ceilalţi 120 de aminoacizi. Cel puţin, noi nu le-am putut găsi, chiar dacă le-am căutat. Astfel, structura este mai importantă decât secvenţa - un lucru demn de reţinut! Funcţiile similare sunt numite „ortologe". Foarfecele RNase H au fost identificate până acum ca fiind cele mai frecvente falduri şi domenii proteice din întreaga biologie - o descoperire recentă a specialistului în evoluţie şi bioinformatică Gustavo Caetano-Anolles din Illinois şi care m-a surprins. RNase H este cea mai veche pereche de foarfece din lume! În cea mai recentă analiză a datelor de la numeroase specii din cadrul experimentului „Tara Oceans" din 2015, în care au fost analizate milioane de secvenţe prelevate din plancton, RNase H şi transcriptaza inversă s-au dovedit a fi cele mai abundente proteine - probabil pentru că retrovirusurile, retrotransposonii şi apărarea antivirală sunt atât de omniprezente, chiar şi în planctonul oceanelor. Toată lumea a fost surprinsă. (Cum funcţionează *silencing*-ul? Pentru cei care vor să ştie: un ARN nou invadator, dacă întâlneşte unul similar din infecţiile anterioare, este recunoscut şi despicat de foarfecele moleculare. Cutia cu instrumente pentru infecţie şi apărare sunt asemănătoare. Structurile foarfecelor sunt identice, dar au nume

diferite, RT-RNase H în virus și Argonaute (PAZ și PIWI) pentru apărare. Foarfecele sunt prezente în multe sisteme biologice: nu numai în virusuri, ci și în bacterii, în mitocondrii, în timpul dezvoltării embrionare umane și în tulburările genetice umane (AGS a fost menționat mai sus). Foarte recent, a fost descoperit sistemul de apărare antiviral al bacteriilor CRISPR/Cas9, în care Cas9 este o foarfecă care apără bacteriile împotriva noilor fagi. Recent descoperit este ARN-ul care interacționează cu PlWI sau, pe scurt, „piARN", cu consecințe asupra moștenirii transgeneraționale - a se vedea mai jos).

În rezumat, există multe nume pentru foarfece. De unde provin foarfecele? Tăierea este în mod normal nespecifică, iar RNazele H trebuie să fie direcționate către locuri specifice și apoi tăiate cu mare precizie. Acestea sunt aproape adevărate foarfece, deoarece desfac legături chimice reale. Inițial, RNazele H au recunoscut și au scindat numai invadatorii înrudiți, dar au devenit mai universale cu timpul. Foarfecele sunt active în interiorul celulelor - și au intrat odată cu primul virus invadator. Este posibil ca foarfecele proteice să fi evoluat inițial din scindarea ARN, tendința fiind cunoscută de la ARN la proteine, de la *ribozime* la RNase H, de la foarfecele ARN la foarfecele proteice. Pentru a mă gândi la acest scenariu a trebuit să mă retrag. Există aproximativ o duzină de foarfece moleculare, RNaze H, și din motive istorice au nume diferite. Am descoperit RNasa H retrovirală și am studiat-o timp de decenii, mi-a ocupat gândirea ani de zile, dar le-am ratat pe toate celelalte.

Ce concluzie jenantă și totodată amuzantă. Acesta este rezultatul specializării și al dominării nevoilor zilnice dictate de un loc de muncă cu normă întreagă și - oarecum în apărarea mea - aproape toate acestea sunt noi. Cu toate acestea, cum am putut să nu observ toate acestea? Aș fi putut să le descopăr - dar nu am făcut-o!

Sistemul imunitar ereditar la bacterii - și cum rămâne cu noi?

Au bacteriile nevoie de sistem imunitar? Se pot îmbolnăvi bacteriile? Cum se pot recunoaște bacteriile bolnave? Au nevoie de apărare antivirală? Se pot proteja singure? Într-adevăr, nu există bacterii cu adevărat bolnave. Dar acestea adăpostesc viruși cu un nume special, fagii. Pot fagii să inducă boli? Nu știu, dar fagii pot face mult mai mult. Ele pot liza bacteriile și le pot distruge complet. Acest lucru se întâmplă în condiții precum stresul de mediu, temperatura ridicată, lipsa de hrană sau lipsa de spațiu. Ar avea bacteriile nevoie de un sistem imunitar împotriva viruşilor lor, fagii? Da, într-adevăr: bacteriile au nevoie de un sistem de apărare anti-fagi, nu împotriva bolilor, ci împotriva morții! Deoarece majoritatea fagilor conțin ADN, bacteriile au nevoie de o apărare antivirală împotriva ADN-ului, la fel cum viruşii ARN au nevoie de o apărare antivirală împotriva ARN-ului.

Fagii ADN sunt respinși prin mecanisme ADN, prin care apărarea unui fag este îndreptată împotriva unui al doilea fag similar. Nu celula, ci virusul, este cea care ripostează împotriva altor virusuri concurente; celula profită de acest lucru. Fiecare fag din interiorul unei celule va apăra celula prin ADN-ul său integrat. Există probabil un motiv simplu pentru aceasta: resursele celulei sunt limitate. Un singur virus care produce sute de progenituri pe celulă este suficient. Același mecanism este valabil pentru toate sistemele virale. Acest lucru este, de asemenea, legat de mecanismul anti ARN, de reducerea la tăcere sau de siARN împotriva altor virusuri ARN. Viruşii reglează întotdeauna acest lucru, celula furnizează doar mediul și profită de el. Acesta este un mecanism general de bază al tuturor viruşilor și al tuturor sistemelor imunitare. Toate diferitele sisteme imunitare celulare au început prin invazia virală a unei celule și respingerea altor viruși. Acest lucru s-a întâmplat până la noi, deci este foarte important!

Sistemul imunitar pe bază de ADN al bacteriilor, care distruge fagii ADN nou infectați, se numește CRISPR/Cas9; CRISPR este un acronim pentru *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*, iar Cas9 pentru *CRISPR-associated enzyme number 9*, sunt multe! Amintiți-vă doar „Crisp" (pentru nou sau proaspăt sau crocant) - și din moment ce chiar laureatul Premiului Nobel C. Nusslein-Volhard scrie pe diapozitivele sale „CRISPER", aceasta nu mai este o greșeală de ortografie, ci legitimă!

Sistemul CRISPR seamănă cu sistemul imunitar adaptiv uman, cel specific care recunoaște invadatorul. Dar este moștenit și, prin urmare, ar putea fi numit și un sistem imunitar înnăscut! Ambele! ADN-ul bacterian al fagului care intră este amestecat, se adaugă spații și fragmentele sunt integrate în genomul bacterian. Dacă intră un al doilea fag, acesta va fi confruntat cu transcripția ARN a fagului anterior integrat. Dacă acesta este identic, va fi tăiat în bucăți de foarfeca moleculară **Cas**. (Cas este o RNază H ușor modificată - cu o structură similară, dar specializată pentru a cliva ADN-ul dintr-un hibrid, nu ARN-ul și, prin urmare, se unește ca o DNază H. H specifică hibridului, indică hibridul ARN-DNA. La urma urmei, virusul invadator are un genom ADN, care trebuie distrus, în timp ce în cazul retrovirușilor ARN-ul trebuie distrus în hibrid de către RNaza H a acestuia).

Fragmentele fagice ADN aliniate sunt inserate în genomul bacterian, așteptând să fie activate ca apărare antivirală. Din nou, un virus îl forțează pe altul să rămână afară. Astfel, virusul și apărarea antivirală sunt foarte asemănătoare - toate acestea tocmai au fost descrise mai sus pentru retrovirusuri. Protecția bacteriilor împotriva fagilor se numește „excluderea superinfecției", ceva de genul „nicio intrare".

Surprinzătorul sistem imunitar al bacteriilor are o altă proprietate neașteptată: este moștenit de la o generație la alta și protejează toți progeniturile bacteriene. Acest lucru se datorează integrării ADN-ului fagic fragmentat al primului fag. Chiar și multe generații mai târziu, transcripția ARNm va ajuta la eliminarea fagilor ADN înrudiți nou infectanți.

Ce se întâmplă cu oamenii? În cadrul prelegerilor publice ținute în timpul Congresului mondial privind ARN de la Davos din 2013, vorbitorii plenari au lăudat sistemul CIRSPR/Cas9 drept singurul sistem imunitar moștenit. La om, mama dă o parte din anticorpii săi nou-născuților, care îi protejează împotriva agenților infecțioși pentru o perioadă limitată de timp, ca un ajutor de început, dar aceștia sunt de scurtă durată. Ne dezvoltăm sistemul imunitar și o memorie imunologică mai târziu în viață. Celulele care ne salvează organismul de invadatori pot rămâne ca celule de memorie mult mai mult timp și se mobilizează și se extind foarte repede în cazul unei infecții repetate - o imunitate pe viață. Da, dar toate acestea sunt valabile doar pentru o viață individuală și nu pentru generația următoare.

De ce bacteriile sunt mult mai bine echipate decât oamenii, cu sistemul lor imunitar „ereditar"? Acest lucru este foarte surprinzător. Poate că nu este adevărat! Mi-am dat seama de acest lucru abia când am scris acest capitol. Avem și noi un sistem imunitar moștenit: retrovirusurile endogene din genomul nostru, care pot acționa ca apărare antivirală, deoarece obligă alte retrovirusuri să rămână afară de-a lungul evoluției. Noi nu mai observăm acest lucru. Virusurile endogene ne protejează împotriva celor înrudite exogene - dintre care multe, sau chiar toate, au dispărut cu timpul; este posibil să nu mai existe. Gândiți-vă la Phoenix, retrovirusul reconstruit pornind de la o duzină de structuri endogene paralizate asemănătoare lui Phoenix. Un virus infecțios a fost reconstruit din strămoși fosili. Ce avantaj atât pentru virus, cât și pentru celulă! Un virus nu poate intra într-o celulă infectată, o celulă care este deja ocupată, decât dacă suferă modificări - este forțat să fie inventiv și să dezvolte ceva nou, evitând ocupantul anterior, mutându-și, de exemplu, receptorii de suprafață pentru o nouă interacțiune virus-gazdă, numită schimbarea tropismului lor. Este nevoie de ceva nou, iar virusurile sunt cele mai inventive entități cărora le-ar putea reveni această sarcină!

Poate că acesta este motivul pentru care, de-a lungul a mai mult de sute de milioane de ani, s-au acumulat atât de mulți viruși reziduali, care astăzi reprezintă aproximativ 50% din genomul nostru. Ei ne-au construit genomul și ne-au apărat celulele împotriva altor viruși. Virusurile au furnizat celulelor apărarea antivirală: acesta este unul dintre mesajele mele cele mai importante - *ceterum censeo* - din nou. Într-adevăr, avem un sistem imunitar ereditar la fel de bun ca cel al bacteriilor.

Retrovirusurile trebuie să fi fost foarte utile și poate că încă mai sunt. Dacă nu mai servesc la nimic, se deteriorează. În concluzie, totul în genomul nostru seamănă foarte mult cu cel al genomurilor bacteriene; ADN-urile-provirus fagice din bacterii seamănă cu ADN-urile-provirus retrovirale din eucariote, deci și din noi. Ambele se integrează și se moștenesc. Au chiar același

nume, proviruși ADN. Așadar, totul se potrivește bine. Oamenii au, de asemenea, un sistem imunitar moștenit; acesta nu este un privilegiu al bacteriilor.

Există cazuri în care acest lucru poate fi clar demonstrat și chiar dovedit: un retrovirus endogen al șoarecilor forțează alți viruși să rămână afară, un fenomen numit „restricție” mai degrabă decât „interferență” (Friend virus-1-restriction, prescurtat FV-1). Gena de apărare provine de la un retrovirus endogen **ERV**, proteina sa structurală **Gag**. Aceste descoperiri au fost publicate în urmă cu aproximativ 40 de ani și ulterior au fost aproape uitate. O proteină virală (în loc de ARN) împiedică intrarea unui virus similar în celulă. Koala din Australia au fost deja menționați: și ei au endogeneizat un retrovirus periculos de maimuță, care le-a infectat celulele germinale și a protejat astfel generațiile următoare de aceleași infecții virale. Imunitatea koala a fost astfel moștenită prin endogeneizarea retrovirușilor. Aceasta este o dovadă. Există mai multe, virusul SIV al maimuțelor protejează maimuțele împotriva unei versiuni simiene a SIDA. Paleovirologii menționați mai sus au detectat, de asemenea, secvențe de bornavirus în genomul nostru, datând de acum 50 de milioane de ani. Expresia endogenă a bornavirusurilor ne protejează împotriva noilor infecții cu bornavirusuri. Caii, care nu au bornavirusuri endogene, se îmbolnăvesc în consecință de aceste virusuri și suferă de depresie ca boală. Liliecii, de asemenea, sunt purtători ai multor virusuri endogene și nu se îmbolnăvesc - dar transmit multe dintre aceste virusuri oamenilor, iar noi ne îmbolnăvim, deoarece nu avem virusurile endogene și murim de Ebola sau HIV.

Astfel, avem, de asemenea, un sistem imunitar ereditar, virușii noștri endogeni, denumiți HERV, LINE sau SINE. Sistemul nostru imunitar ereditar urmează același principiu ca în cazul bacteriilor. Pro-virușii ADN-ului fagului CRISPR se acumulează în genomul bacteriilor și, de asemenea, al *arhaei*. Aceste secvențe protectoare pot varia ca număr în funcție de nevoia de apărare împotriva fagilor și pot fi pierdute din nou. Pentru comparație, 50% din genomul nostru este legat de secvențe retrovirale. Probabil că în ambele cazuri nu mai recunoaștem secvențele virale mai vechi după un anumit timp. Este posibil ca virușii exogeni să fi dispărut ca viruși exogeni. Virusul Phoenix reînviat, obținut în condiții de laborator, nu mai există în natură. Prin urmare, secvențele Phoenix au devenit paralizate și inutile ca apărare. Acum înțelegem de ce avem atât de mulți retroviruși endogeni în genomurile noastre - ei ne-au protejat cândva. Erau apărarea noastră antivirală și țineau virușii înrudiți afară. Ce răspuns simplu la o asemenea enigmă! Poate că se vor pierde după ce va trece mai mult timp.

Dovedește acest lucru că virușii au „inventat” sistemul imunitar celular furnizând genele lor celulei? Sau ar fi putut fi invers: virușii și-au „furat” componentele de la celulă? Multe manuale de virusologie sugerează această din urmă idee, iar eu nu o cred, deși unii colegi o cred.

Este uimitor cât de asemănătoare sunt toate sistemele imunitare, chiar dacă la prima vedere par atât de diferite. În toate cazurile funcționează același principiu: virușii provoacă apărarea antivirală cu ajutorul foarfecelor moleculare aferente. Această observație sintetizează unul dintre cele mai importante principii pentru înțelegerea rolului proeminent al virușilor ca motoare ale evoluției. Doar această propoziție merită reținută - uitați toate detaliile! Detaliile sunt mai mult pentru specialiști, pentru a-i convinge de justețea argumentului meu - și pentru a furniza fapte. Se poate citi acest lucru chiar și într-o lucrare științifică evaluată de colegi din 2015.

Terapii care imită apărarea antivirală – CRISPR/Cas9

Cum se pot găsi noi medicamente împotriva unei boli? Am putea încerca să imităm natura și să luptăm împotriva acizilor nucleici folosind alți acizi nucleici și foarfece moleculare. Natura exploatează astfel de posibilități. Au fost avansate trei mecanisme posibile pentru acizii nucleici terapeutici: ADN antisens, *ribozime* și ARN silențios (siARN). În toate cele trei cazuri, mecanismele antivirale naturale sunt imitate de acizii nucleici terapeutici. Acest lucru a părut inițial foarte încurajator pentru creatorii de medicamente: ceea ce poate face natura, putem și noi să copiem și să încercăm. Dacă vrem să zburăm, să imităm păsările. De fiecare dată când a fost anunțată o nouă terapie, aceasta a fost sărbătorită ca o revoluție și a fost însoțită de comunicate de presă entuziaste, înființări de întreprinderi și *business angels* (Îngeri de afaceri) mobilizați.

Dezvoltarea medicamentelor pe bază de acizi nucleici terapeutici nu necesită structuri cristaline sau screening de mare capacitate: se poate face pur şi simplu pe hârtie, prin compararea secvenţelor. Singurul lucru care trebuie cunoscut este regula de împerechere a dublei helixuri: A-T şi G-C sau, în cazul ARN, A-U şi G-C. Pentru terapia antisens, o bucată de ADN sau ARN monocatenar este proiectată împotriva unei gene periculoase care trebuie inactivată. ARNm al genei respective formează un hibrid local cu ADN-ul proiectat, care activează foarfeca RNase H şi apoi ARN-ul este scindat. Aceasta pune capăt producţiei proteinei respective. Alternativ, un blocaj al ARNm poate pune capăt sintezei proteinelor şi poate opri ribozomii. Aceasta duce, de asemenea, la inhibarea producţiei de proteine - inclusiv a virușilor.

În locul terapiei *antisens*, o altă abordare pentru inactivarea genelor se bazează pe *ribozime* împotriva ARNm. În acest caz, ARN-ul însuşi este enzima care efectuează scindarea şi nu este nevoie de RNaza H cu foarfecă. *Ribozimele* se leagă de secvenţe selectate şi se clivează cu foarfecele lor endogene. Ele pot fi, de asemenea, proiectate la birou împotriva ARN-ului care urmează să fie eliminat. Se adaugă aproximativ şapte nucleotide de o parte şi de alta ca nişte picioruşe, flancând locul critic de clivare, care poartă numele semnificativ „GUN”, nucleotidele G, U şi N (N reprezintă oricare dintre cele patru nucleotide), ca triplet de clivare. Această abordare a fost utilizată împotriva oncogenei „ARN Bcr- Abl”, care este tipică leucemiei mieloide cronice. O *ribozimă* de acest tip împotriva HIV, în combinaţie cu alţi factori, este, de asemenea, în curs de testare clinică în California, în City of Hope, un nume de loc sugestiv.

A treia abordare generală pentru reducerea la tăcere a genelor este utilizarea *siARN*. Acesta constă din ARN scurt cu două catene, cu o lungime de aproximativ 20 de nucleotide, separate în catene simple. Unul dintre acestea se leagă de ARN-ul ţintă selectat şi apoi activează foarfeca (Argonaute cu PIWI-RNase H) pentru a tăia ARN-ul nedorit.

Toate cele trei abordări au trezit iniţial mari speranţe pentru terapii. Ce a mai rămas din ele astăzi? O mulţime de date de cercetare privind mecanismele *antisens*, *ribozime* şi *siRNA*, dar niciun medicament şi cu siguranţă niciun *blockbuster.* Toate suferă de aceeaşi problemă: cum să direcţioneze acizii nucleici terapeutici către locul ţintă pentru clivare - în celulele tumorale, în creier, în organe. Natura a dezvoltat o procedură splendidă pentru a realiza acest lucru: virușii! Corect, a fost concluzia, să încercăm viruși sintetici sau modificaţi, lipozomi, nanoparticule sau viruși „degutaţi”. Un întreg domeniu de cercetare, bionica, se bazează pe copierea naturii. Se poate exploata caracterul modular al virușilor şi se pot asambla cele mai valoroase componente virale, „cea mai bună din toate lumile virușilor”, după cum au numit-o autorii, combinând gene de la o duzină de viruși diferiţi; o distracţie grozavă în laborator, dar, din nou, puţin succes terapeutic a rezultat din aceasta. Singurul medicament de acest tip de care am cunoştinţă este o terapie *antisens* împotriva unui virus herpetic, citomegalovirusul care infectează ochii. Picăturile pentru ochi trebuie aplicate de către pacient - nu de către un virus sau o nanoparticulă! ADN-ul *antisens* a fost descris pentru prima dată de Paul Zamecnik, „părintele antisensului”. Abia mai târziu a fost recunoscut faptul că virușii şi bacteriile îl folosesc, de asemenea, ca principiu de reglementare. Acest lucru a făcut abordarea şi mai atractivă pentru proiectarea medicamentelor: ceea ce a proiectat natura, putem dezvolta în consecinţă. Virusurile herpetice utilizează acizi nucleici *antisens* pentru a menţine virusul în stare latentă. De asemenea, menţinerea imunităţii fagului PI împotriva suprainfecţiilor se bazează pe acest principiu. Acestea au fost lucrări de pionierat efectuate la Institutul Max Planck din Berlin, în laboratorul lui Heinz Schuster. Îmi amintesc foarte bine că, în 1994, s-a căutat o proteină represoare în imunitatea fagului PI şi, în schimb, s-a descoperit un acid nucleic. Acest lucru a fost publicat în revista *Cell*.

Au apărut noi posibilităţi neaşteptate de a exploata aceste tehnologii pentru eliminarea genelor. Inactivarea completă a unei gene, „pierderea funcţiei”, ne permite să aflăm care este sarcina genei. Nu există laborator în lume care să nu utilizeze această tehnologie *antisens* pentru a înţelege căile metabolice, bolile sau cancerul. Ea poate fi realizată în culturi celulare şi, de asemenea, cu animale, deşi nu la om. Ce rămâne din aceasta? O bună cercetare şi identificarea şi „validarea” - confirmarea rolului esenţial - genelor ţintă.

Am folosit, de asemenea, o bucată de ADN pentru a inactiva HIV, un „ADN silențios” în locul unui ARN silențios. Un ADN cu bucle în ac de păr este direcționat către o regiune conservată a ARN-ului viral din particulă și activează foarfeca moleculară, RNaza H virală, conducând HIV la „sinucidere”. În volumul *Simpozionului Cold Spring Harbor CSH* din 2006 l-am denumit ADN silențios, „siDNA”. Poate că poate ajuta femeile să se protejeze, ca microbicid vaginal împotriva infecțiilor cu HIV - o cale lungă și costisitoare.

Există acum o nouă tehnologie, al patrulea acid nucleic terapeutic, derivat din sistemul imunitar al bacteriilor. Întreaga lume este fanatică în privința ei!

Bacteriile păstrează genele unui fag infectant prin integrarea ADN-ului său în genomul lor. Dacă un fag similar intră în bacterie, acesta este recunoscut de ARN-ul transcris din primul și o tăiere distruge noul fag. Sistemul se numește CRISPR/Cas9, unde Cas9 este foarfeca moleculară, nuclează care efectuează tăierea. Cercetătorii imită acest răspuns imun prin combinarea unei nucleaze cu ARN. ARN-ul se numește „ARN-ghid” și are două funcții: una este de a găsi locul de clivare prin homologia secvenței, iar cealaltă este de a aduce informațiile pentru modificările genetice. În plus, ARN-ul are un cârlig, cu care se agață de nuclează. Modificările genetice sunt descrise drept „editare”. *New York Times* a publicat titlul „editați ADN-ul”. Amintiți-vă că „edit” este o comandă pe computer și înseamnă „schimbare”. ADN-ul țintă, împreună cu ARN-ul ghid, formează un hibrid ARN-ADN, prin care ADN-ul este tăiat de foarfeca moleculară Cas9. Aceasta poate tăia regiuni din ADN, iar capetele vor fi unite de celulă. Sau celula copiază ARN-ul ghid pentru editare. Spre deosebire de alte tehnologii de modificare a ADN-ului, CRISPR poate fi utilizat pentru a modifica gene specifice fără introducerea de ADN străin, fără „recombinare”. Acesta este un mare avantaj. De asemenea, nu există încă legi sau restricții. A fost una dintre „primele 10” descoperiri celebrate în *Nature* și *Science* la sfârșitul anului 2013. Jurnaliștii și-au descris imediat viziunile: ștergerea genelor, editarea (modificarea) virușilor, bacteriilor, plantelor, defectelor genetice, vindecarea bolilor - modificarea tuturor sistemelor imaginabile de pe planeta noastră, inclusiv a oamenilor. Orice modificare dorită a ADN-ului într-o celulă vie sau într-un animal întreg este posibilă; de fapt, pot fi efectuate mai multe modificări în același timp: este suficient să combinați modificările secvenței dorite pe un ARN ghid lung. Celula îl va copia. Aproape în fiecare zi apar kituri disponibile în comerț pentru a face procedura cât mai simplă posibil. Companiile oferă viruși pentru a transporta complexul în celule. În prezent, primesc trei e-mailuri cu oferte în fiecare zi! Am văzut până la 62 de modificări efectuate dintr-o singură lovitură, pentru a „umaniza” un porc întreg, astfel încât părțile de rezervă ale inimii sau ale altor organe să poată fi transplantate pacienților fără respingere imună. Orice student poate utiliza această metodă și poate modifica genomul celulelor și al embrionilor pentru a produce animale transgenice - aproape în cel mai scurt timp, ceea ce înainte necesita până la trei ani de muncă asiduă din partea unui doctorand, și chiar și atunci nu întotdeauna cu succesul garantat. Acum este nevoie de trei săptămâni.

Editarea este un fenomen general în biologie, nu inventat de Google. Același mecanism este prezent și în *arhaea*. Tripanosomii africani prezintă, de asemenea, o editare extinsă și variație genetică, iar oamenii au de 35 de ori mai multă editare în creierul embrionar decât maimuțele. Așadar, acesta este un mecanism natural. Se pot face bacteriile multirezistente din nou sensibile la antibiotice? Aceasta este una dintre cele mai urgente nevoi la nivel mondial. Biologul sintetician Timothy Lu, de la Massachusetts Institute of Technology, încearcă acest lucru prin infectarea bacteriilor cu fagi în vederea editării pentru a le face din nou sensibile la antibiotice. În special biofilmele, formate din straturi de bacterii care nu metabolizează foarte activ, sunt vizate de fagii de editare. Editarea prin tehnologia CRISPR/Cas9 este cea mai nouă modă în cercetarea acizilor nucleici. Acest entuziasm m-a cuprins și pe mine. Noutatea constă în rapiditatea și simplitatea abordării. Există 20 de tipuri de foarfece de tip **Cas**, cu specificități diferite - unele chiar taie ARN monocatenar. Cum vor fi ele utilizate?

Unii oameni de știință sunt îngrijorați de potențialul abuz al acestei metode. Copiii concepuți au fost deja anunțați în presă! Într-adevăr, cercetătorii chinezi au modificat genele embrionilor umani la începutul anului 2015 - chiar dacă embrionii nu au supraviețuit. Cu toate acestea, s-ar putea imagina experimente cu embrioni umani reali. „*Engineering the Perfect Baby*” a fost titlul

unui articol publicat la MIT la începutul anului 2015. Un copil de un an a fost tratat pentru a accepta un transplant pe care altfel l-ar fi respins. Metoda nu este 100% precisă. Există așa-numitele efecte „*off-target*”, care pot duce la efecte secundare și la editarea unor gene greșite. Această problemă trebuie să fie depășită - este tipică pentru toți acizii nucleici și nu este trivială de depășit. La începutul anului 2016, autoritățile britanice au aprobat utilizarea embrionilor umani în laborator timp de aproximativ o săptămână - de la stadiul de patru celule la cel de 256 de celule - pentru a aplica tehnologia CRISPR și pentru a testa rolul anumitor gene în timpul dezvoltării embrionare timpurii. Celulele trebuie apoi să fie eliminate. La șoareci, distrofia musculară Duchenne (o afecțiune genetică a mușchilor la băieți) a fost vindecată prin tăierea unei regiuni cu un defect genetic. Comitetele de etică se pregătesc să evalueze această tehnică. Autorestricția oamenilor de știință este ceva ce am mai avut înainte - în legătură cu tehnologiile ADN-ului recombinant. Aceasta a fost inițiată la celebra conferință Asilomar din 1975, din teama de pericolele biologice. La sfârșitul anului 2015, un comitet din cadrul Summitului internațional privind editarea genelor umane a declarat că noua tehnologie de editare nu ar trebui să fie utilizată pentru a modifica embrionii umani în timpul sarcinii. David Baltimore, de la Caltech, a prezidat summitul și a declarat: „Oamenii de știință trebuie să fie precauți, pentru că, odată ce ai făcut o modificare genomică, nu o mai poți lua înapoi” - o declarație pe care unii oameni o consideră prea blândă. În fiecare an, opt milioane de copii se nasc cu defecte genetice. Au ei nevoie de o modificare, de o schimbare? Unde și când?

Este foarte surprinzător pentru mine faptul că, în ambele cazuri în care oamenii de știință au proclamat auto-restricții, metodele s-au bazat pe sisteme imune bacteriene: un sistem de apărare bacterian a fost primul, utilizarea „endonucleazelor de restricție” descoperite de Werner Arber în Elveția, baza ADN-ului recombinant. Acum este vorba de sistemul imunitar CRISPR/Cas 9. Bacteriile folosesc aceste două sisteme de apărare împotriva fagilor, cam în aceeași măsură. Suntem entuziasmați, dar și tulburați. Arber a primit Premiul Nobel în 1978. Cine va fi următorul?

Două tinere domnișoare conduc această tehnologie cu o viteză uluitoare și ambele au ajuns deja pe lista scurtă a candidaților pentru următorul Premiu Nobel. Una dintre ele este Emmanuelle Charpentier, care a fost numită noul director al Institutului Max Planck din Berlin. Jim Watson a vrut să afle mai multe despre ea; părea impresionat și puțin curios, de asemenea! Cealaltă este Jennifer Doudna din Berkeley, California. Un al treilea tânăr, Martin Jinek din Zurich, a rezolvat structura cristalină a Cas9. Enzima este o variantă a RNazei H - cu excepția faptului că desparte ADN-ul în hibrizi, deci ar trebui numită DNază H. În plus, Feng Zhang de la MIT conduce diferitele aplicații și a facilitat tehnicile. În spatele scenei se desfășoară un război al brevetelor între Berkeley, care a depus cererea mai devreme, și MIT, care a depus-o mai târziu, dar pentru mai multe aplicații. Din păcate, sunt implicați mulți bani. Compania Bayer a investit 300 de milioane de euro pentru trei boli, tulburări de sânge, orbire și boli cardiace congenitale. Alte trei companii mari s-au implicat și vor urma multe alte investiții. 600 000 de grupuri de cercetare s-au pus în mișcare - această tehnică este aplicabilă de către toată lumea. Este important de remarcat faptul că această metodă poate fi utilizată pentru a modifica (edita) sau inactiva gene specifice fără introducerea ADN-ului unui organism străin. Astfel de organisme editate nu intră în prezent sub incidența legislației restrictive impuse OMG-urilor (organisme modificate genetic). Genele care sunt copiate dar nu recombinate ar fi mai puțin periculoase. Dar discuțiile autorităților de reglementare au început deja. Această poveste va continua!

De la crabi potcoavă și viermi pentru imunizare

Există un animal cu aspect antic, din care se pot găsi sute pe plaja din Long Island și în delta Mississippi. Acesta este momentul în care crabii potcoavă se împerechează. Au trei ochi pe o carapace în formă de potcoavă care le dă numele. De asemenea, au o coadă lungă și subțire ca o săgeată - folosită și pentru cealaltă denumire a lor, crabi cu coadă de săgeată. Nu au sistem imunitar. Cum au reușit să supraviețuiască atât de mult timp? Animalele au sânge albastru în loc de roșu: ele conțin hemocianină în loc de hemoglobină, iar sângele lor conține cupru în loc de fier. Cuprul este toxic pentru microorganisme. Acesta este motivul pentru care, în trecut, incubatoarele pentru

cultivarea culturilor de celule erau fabricate din cupru, deoarece acesta are un efect antimicrobian - o rămășiță de pe vremea lui Robert Kochs. Îmi amintesc și acum că lucram cu ele. În cazul în care sistemul imunitar lipsește la oameni, cum este cazul copiilor ADA, aceștia sunt expuși riscului de boli care le pun viața în pericol și trebuie ținuți izolați în corturi sterile. Nevertebratele și insectele pot scăpa și ele cu sânge albastru pentru supraviețuire. Odată am luat acasă o carapace de crab, am uscat-o și am păstrat-o ca fosilă vie până când, într-o zi, a început să se descompună și a trebuit să fie eliminată. Chiar nu au transcriptază inversă, siARN, CRISPR, ERV-uri sau IgG-uri? Toate aceste sisteme imunitare pot fi înlocuite de nişte cupru în sânge? Pentru ultimele 500 de milioane de ani? - surprinzător!

Ce pot face oamenii pentru a-şi îmbunătăţi sistemul imunitar? Să mănânce viermi! Asta nu sună foarte atrăgător. Se poate formula mai ştiinţific şi descrie viermii ca helminţi, deşi mâncatul de viermi este ceea ce înseamnă „terapia helmintică”. Alergiile sunt în creştere deoarece sistemele noastre imunitare nu sunt suficient de ocupate cu ameninţările străine. Ele sunt plictisite şi caută alte alternative - inclusiv, din păcate, antigenele proprii organismului. Acest lucru duce la alergii şi boli autoimune. Acestea sunt frecvente în habitatele moderne industrializate, unde oamenii nu intră suficient de des în contact cu paraziţi sau alţi germeni infecţioşi, astfel încât nu au suficientă stimulare a sistemului lor imunitar. Copiii fermierilor au devenit locuitori ai oraşelor, cu aspiratoare în loc de balegă de vacă. În bolile autoimune, răspunsul imunitar este îndreptat împotriva „sinelui” în loc de „străin”, împotriva părţilor din propriul corp ale organismelor în loc de invadatori străini. Copiii din Elveţia sunt ţinuţi în cele mai curate condiţii, poate cele mai curate din lume, potrivit unei estimări. Astfel, imunologul elveţian Rolf Zinkernagel a anunţat într-un articol din ziarul popular *Blick* că terapia cu viermi este o opţiune împotriva bolilor autoimune. El nu a fost primul care a propus acest lucru. Cu ani în urmă, un „avocat” american al helminţilor oferea ouă de viermi pe internet ca tratament împotriva alergiilor, dar Administraţia americană pentru alimente şi medicamente a pus capăt acestei iniţiative. Astfel, el a emigrat în Marea Britanie şi a continuat să ofere terapia sa. Chiar şi *Nature* a dedicat un articol acestui subiect: pacienţilor cu boli inflamatorii intestinale (IBD) li se oferă o băutură care conţine mii de ouă de viermi. Ouăle sunt transportate în intestine, unde larve mici sunt eliberate şi se dezvoltă în veritabili viermi. Din fericire, acestea sunt atât de mici încât nu se recunosc. Nimeni nu vrea să îşi amintească de micii viermi albi din fecalele copiilor. Viermii terapeutici sunt derivaţi dintr-un vierme porcin, aşa că mor în opt săptămâni în intestinul uman. Un medic, Joel V. Weinstock, care lucrează la Universitatea Tufts din SUA, a descris sistemul nostru imunitar ca fiind „şomer”, fără loc de muncă. Dacă acum începe să se îndrepte împotriva viermilor, este distras de la reacţia autoimună. Weinstock tratează cu viermi pacienţii cu boli cronice precum boala Crohn, colita ulcerativă, diabetul de tip I, psoriazisul, scleroza multiplă şi alergiile alimentare. La Freiburg, în Germania, este în curs un studiu clinic al acestei terapii cu viermi la 330 de pacienţi. Interesul este uriaş. Nimeni nu trebuie să fie convins să se alăture proiectului.

Numele viermelui este *Trichuris suis*. Poate că ar trebui să se înghită ouăle în mod repetat, după un anumit program, pentru a suprima autoimunitatea într-un mod mai permanent. Astfel de teste au fost iniţiate şi la Mount Sinai School of Medicine din New York. „Ipoteza igienei” presupune că pacienţii cu scleroză multiplă care primesc paraziţi ca terapie prezintă o evoluţie mai lentă a bolii lor decât pacienţii care primesc un tratament de control. În prezent, pe piele se lipesc plasturi cu larve de nematode (viermi); larvele pătrund în piele şi ajung în intestine. Această terapie este ieftină şi simplă. Deocamdată există puţină experienţă în ceea ce priveşte posibilele consecinţe ale acestui tratament asupra altor infecţii. Ce se va întâmpla cu marile campanii împotriva viermilor din Africa? Acolo, elevii au fost trataţi pentru a scăpa de viermi, ceea ce le-a îmbunătăţit semnificativ performanţele şi le-a sporit capacitatea de învăţare la şcoală. Copiii din Africa probabil că nu vor face boli autoimune, chiar şi fără viermi, deoarece sunt suficient de expuşi la paraziţi sau la „murdărie”, ceea ce le ţine sistemul imunitar ocupat. Un alt aspect al viermilor este utilizarea lor pentru tratarea rănilor profunde care refuză să se vindece, cum ar fi *Ulcus cruris*, adesea localizat la tibie şi datorat vaselor de sânge slabe. Sau ulcerele de presiune la pacienţii din spitale şi aziluri (plăgi de pat sau de decubit) cauzate de imobilitate şi de presiunea pielii. Viermii se vor hrăni cu

microbii infectanți și îi vor „curăța”. Această procedură este aplicată în spitalele universitare unde pacienții necesită tratament staționar. Foarte recent, s-a discutat și despre fagi ca posibil mijloc de vindecare tocmai a acestor tipuri de leziuni, prin distrugerea infecțiilor bacteriene.

Un om de știință atât de bine educat precum Freeman Dyson mi-a spus odată că a suferit anterior de artrită cronică. Apoi a fost mușcat de un câine în Varșovia - și acest lucru a făcut ca artrita să dispară. Într-o zi vom înțelege mecanismul acestei vindecări remarcabile, a prezis el. Probabil că mușcătura i-a activat sistemul imunitar și l-a redirecționat către microbii câinilor din rană, departe de artrita sa autoimună. Unii oameni propagă ideea că copiii ar trebui să crească alături de câini sau să-și petreacă vacanțele alături de animale în ferme - ca antrenament pentru sistemul lor imunitar.

Dyson a menționat și medicul său de familie din La Jolla, California, la care își ducea cei șase copii atunci când era nevoie. Medicul observase că copiii din partea mexicană a frontierei aveau viermi anchilozați, dar nu aveau alergii, spre deosebire de copiii din partea californiană, care aveau alergii, dar nu aveau viermi anchilozați. Chiar și virușii au fost folosiți de ani de zile ca „viroterapie”. Vaccinarea cu virusuri inactivate a demonstrat efecte imunostimulatoare nespecifice. La un pacient, o tumoare a dispărut după ce pacientul a fost vaccinat cu un vaccin antirabic. Într-un alt caz, leucemia unui băiat a fost redusă după o vaccinare antivariolică. Acestea au fost rapoarte de caz și nu au fost niciodată urmărite sistematic. Rămâne de văzut dacă terapiile cu viermi au vreun potențial pentru viitor sau dacă vor prezenta un interes de lungă durată. Într-o zi, vor exista terapii mai bune.

Poate prea multă igienă să ne îmbolnăvească? S-a întâmplat odată să întâlnesc în tren un profesor și familia sa din Bangladesh. Era primăvara anului 2013, iar râul Elba atinsese niveluri neobișnuit de ridicate, inundând mlaștinile din jur. El a menționat că în Bangladesh copiii înoată în râuri și înghit apă murdară fără să se îmbolnăvească. Apa curată ne va îmbolnăvi, a explicat el - opusul a ceea ce s-ar putea crede. Acest lucru poate fi observat la adulți, care se îmbolnăvesc pentru că nu își mai antrenează sistemul imunitar cu apă murdară. În apele uzate există aproximativ 50 000 de tipuri de virusuri (în principal fagi) și alte 250 de tipuri de virusuri, dintre care 17 sunt cunoscute ca fiind cauza unor boli precum poliomielita. În orașul sfânt indian Benares (sau Varanasi), am observat odată cum pelerinii foloseau pentru a se spăla pe gură mici cutii rituale speciale din cupru, pe care le umpleau cu apă din râul Gange. Mi s-a părut îngrozitor, deoarece apa părea foarte murdară. Nu trebuia să-mi fac griji - ei se imunizau! Unii fagi din râul Gange au fost descriși cu zeci de ani în urmă ca având eficacitate antibacteriană. Apa „sfântă” a Gangelui trebuia să ajute împotriva holerei și a leprei. Poate că au folosit cutiile de cupru pentru o eficiență antimicrobiană suplimentară. Am adus unul acasă ca suvenir. Astăzi este acceptat faptul că prea multă igienă poate fi o cauză a alergiilor și a bolilor intestinale cronice - dar și împotriva astmului și autismului? Lăsați-i să încerce ouăle de vierme. Cu toate acestea, copiii din Bangladesh sunt încă infectați cu poliovirus. Așadar, doar apa de râu nu este suficient de sigură pentru a proteja împotriva bolilor. Mai recent, interacțiunea dintre agenții patogeni și apărarea gazdei a fost analizată dintr-o perspectivă complet diferită: dacă un șoarece nu are microbi, inclusiv microbi intestinali, atunci acesta dezvoltă un sistem imunitar slab. Microbii intestinali sunt o condiție prealabilă pentru un sistem imunitar robust. Acesta este unul dintre rezultatele proiectului privind microbiomul uman (HMP). Un microbiom și un sistem imunitar bune sunt deja stabilite în timpul nașterii. La începutul anului 2016, s-a demonstrat că nașterea prin cezariană, care este utilizată în aproximativ 90% din nașterile din China, poate provoca alergii și artrită mai târziu în viață, în jurul vârstei de 40 de ani. Ca măsură de protecție, nou-născuții trebuie tratați cu microbii intestinali obișnuiți recuperați prin spălarea canalului de naștere al mamei: un duș de microbi pentru un nou-născut! Rapoartele despre primii patru copii tratați în acest fel au apărut la începutul anului 2016. Nou-născuții imaturi sunt în cel mai mare pericol de infectare cu germeni de spital. Am studiat câțiva dintre ei care s-au infectat cu bacterii multidrog rezistente (MRSA). Aceștia vor primi în viitorul apropiat un tratament cu microbiomul mamelor lor. Cele mai noi terapii împotriva cancerului se bazează tot mai mult pe terapii imune, prin care celulele tumorale sunt mai întâi făcute imunogene, pentru a permite sistemului imunitar să le recunoască și să le elimine. Semnalul pe care celulele îl folosesc pentru a

scăpa de supravegherea imunitară se numește „*do not touch me*” sau, mai științific, PD-1 (proteina 1 a morții celulare programate), descoperit de Irving Weissman de la Universitatea Stanford în urmă cu zeci de ani. Abia recent a fost onorat pentru aceasta printr-un generos premiu elvețian, „Premiul Brupbacher”. PD-1 trebuie să fie blocată de un anticorp - și atunci sistemul imunitar poate distruge celula tumorală. Să sperăm că acest lucru va funcționa!

Virușii și psihicul

De mai multe ori, am menționat stresul aplicat bacteriilor și fagilor. Pentru acestea, stresul este indus de lipsa de spațiu, de lipsa hranei sau de temperaturile extreme. Pentru șoareci, stresul este indus de schimbarea cuștii de mai multe ori pe zi și de oferirea de noi parteneri. Acest lucru este aproape la fel ca în cazul oamenilor care își pierd casa, locul de muncă sau partenerul - cei mai puternici trei inductori de stres pentru oameni. La bacterii, stresul activează factori, represoarele sunt deplasate din locația lor pe ADN, ADN-ul fagului este eliberat din genomul gazdei bacteriene, iar bacteriile intră în faza lytică. La om, stresul activează cascade de semnal kinază de tipul celor menționate în legătură cu celulele canceroase. Acestea activează genele de răspuns la stres sau opresc diviziunea celulară. În rest, stresul uman este similar cu stresul bacterian, activând și virusurile herpetice. Acestea sunt niște „psihosenzori” fantastici și sesizează problemele înainte ca noi înșine să fim conștienți de ele. Ele sunt activate de tristețe, de prea multe întâlniri la serviciu, de munca prea grea, de examene, de programări la dentist, de lipsa somnului, uneori de hormoni și uneori și de prea mult soare. Apoi, virusurile herpetice se „târăsc” din nișele care le-au dat numele. Ei persistă cronic în măduva spinării și în ganglioni și sunt mereu acolo, chiar dacă nu îi observăm. Ei pot persista neobservați timp de decenii. În timpul ceremoniilor de botez, mătușile și unchii aduc adesea, fără să știe, virusuri herpetice ca mici cadouri pentru copil, sărutându-l. Nouăzeci la sută dintre noi îi avem. În condiții de stres, virușii își părăsesc ascunzătoarea din adâncul măduvei spinării și migrează prin nervi spre periferie, cum ar fi buzele, și provoacă leziuni cu un număr enorm de viruși și o infectivitate ridicată. Aceste leziuni se mai numesc și răceli, deoarece frigul (sau febra care însoțește o „răceală”) este un fel de stres pentru sistemul imunitar. Ele sunt adesea recurente și revin în mod repetat și nu dispar niciodată, odată *herpes* întotdeauna *herpes*. Alte boli, cum ar fi zona zoster, sunt cauzate de virusul varicelă zoster, din nou o infecție cu virus herpes. Poate fi un semnal de alarmă serios care indică alte boli grave, cum ar fi o tumoare. Dacă virușii ajung la creier, pot provoca encefalită și pot pune viața în pericol. Un studiu a arătat că femeile cu cancer la sân au șanse mai mari de supraviețuire mai lungă dacă au o familie care le sprijină, prieteni și un mediu pozitiv. Efectele psihologice pot merge într-adevăr atât de departe. Sistemul imunitar este cel mai incredibil senzor. Chiar dacă întâlnim doar ceva care ne dezgustă, virusurile herpetice se pot activa. Acest lucru mi se pare cel mai surprinzător. Virușii herpetici sunt cei mai sensibili detectori ai problemelor noastre psihologice profunde. Poate că acest lucru este valabil și pentru alți viruși și boli, dar nu am descoperit încă acest lucru.

10. Viruși și fagi pentru supraviețuire?

Fagii uitați

Aplicarea fagilor în locul antibioticelor pentru uciderea bacteriilor a fost introdusă de Felix d'Herelle în 1916 - acum 100 de ani! Cu toate acestea, el a avut ghinion, deoarece numai zece ani mai târziu (1928) descoperirea antibioticului penicilină, de către Alexander Fleming, a pus capăt planurilor și speranțelor sale. Antibioticele sunt mult mai ușor de manipulat, acționează nespecific împotriva unei varietăți de bacterii și sunt mai eficiente. Ca terapii, acestea au depășit complet fagii. Astfel, terapia cu fagi, ca mijloc de ucidere a bacteriilor, a fost dată uitării înainte chiar de a fi demarat. Aceasta a fost o mare dezamăgire pentru d'Herelle, care văzuse imediat implicațiile descoperirii sale cu privire la fagi și îi demonstrase, de asemenea, eficacitatea. A călătorit, destul de frustrat, în diferite țări unde a tratat cu succes epidemii precum holera din India. Împreună cu Georgi Eliava, a înființat la Tiflis (astăzi Tbilisi), în Georgia, un institut al fagilor, care există și astăzi.

Această tradiție face ca Europa de Est și Rusia să fie în continuare liderii terapiilor cu fagi. În Rusia, se poate merge la farmacie și se pot cumpăra fagi ca produse OTC (*over-the-counter*). Recunosc că nu am reușit acest lucru, dar numai pentru că nu vorbesc rusa și nu am avut interpret. Până acum, milioane de oameni au primit terapii cu fagi. Acestea nu fac rău; dar vindecă cu adevărat? Adesea au fost publicate doar rapoarte de caz, fără grupuri de control. În consecință, autoritățile sanitare americane (FDA) au refuzat aprobarea acestor terapii deoarece criteriile de control al calității nu au fost încă îndeplinite. Un medicament aprobat trebuie testat din punct de vedere al efectelor secundare, trebuie să fie supus unor studii de toxicitate pe animale, iar materialul de bază definit trebuie să fie păstrat pentru teste repetate. Bacteriile se schimbă rapid; de asemenea, ele formează cvasi-specii, populații în roi. Prin urmare, problema terapiei cu fagi nu este una banală.

În 2010, în timpul unei reuniuni internaționale despre fagi la Institutul Pasteur din Paris, un fost pacient din public s-a ridicat și a povestit participanților la reuniune despre trei transporturi de fagi din Georgia care, spunea el, i-au vindecat boala de piele. Niciun medic nu fusese în stare să-l ajute. Oficialii americani din domeniul sănătății s-au opus în mod clar unei astfel de terapii în cadrul unei sesiuni ulterioare - dar cel puțin au fost prezenți, ceea ce, până la urmă, a însemnat ceva. Rapoartele de caz nu sunt niciodată acceptate cu ușurință și sună neștiințific. Cu toate acestea, ar trebui cel puțin să le acordăm atenție. În timpul războiului ruso-finlandez din 1939, soldații răniți au fost tratați cu succes în spitalele de campanie cu amestecuri de fagi împotriva antraxului, o infecție bacteriană care altfel s-ar fi soldat cu amputarea membrelor - sau cu moartea. Cocktailul de fagi a fost picurat direct în răni - tratamentul local este încă cea mai simplă și mai promițătoare terapie. Astfel de succese au menținut reputația acestui tip de tratament. Ce fagi ar trebui utilizați, cum și când? - Aceasta este întrebarea. Acestea trebuie să se potrivească cazului care trebuie tratat. Această problemă era deja cunoscută de d'Herelle. Antagoniștii săi nu puteau repeta experimentele sale, deoarece foloseau fagi diferiți sau nepotriviți, astfel încât d'Herelle a sugerat de timpuriu că ar trebui să se utilizeze amestecuri de fagi, cocktailuri, pentru a crește șansele de administrare a fagului potrivit pentru a distruge bacteria.

În Polonia, infecțiile prostatei sunt tratate cu fagi. Rezultatele nu sunt copleșitoare, iar detaliile nu au fost raportate clar. În 2012, aproximativ 40 % din cei 157 de pacienți au fost descriși ca având un răspuns pozitiv. Compania elvețiană Nestle a început, de asemenea, studii cu fagi. De ce Nestle? Poate că fagii pot fi folosiți pentru a ucide bacteriile și a produce apă curată? Sau pentru a vindeca diareea? Nestle a început cu bine-cunoscuta tulpină fagică de laborator T4 din

Bangladesh, pe care a folosit-o pentru a trata copiii de diaree. Grupul de control format din copii din Elveția a avut rezultate mult mai bune, probabil pentru că copiii din Bangladesh aveau mult mai multe tulpini bacteriene diferite decât grupul de control din Elveția, astfel încât un singur fag pentru tratament era insuficient. A fost o surpriză faptul că diareea din Bangladesh nu se datora tulpinii tipice *E. coli* T4, despre care se presupunea că ar fi cauza diareei lor. Prin urmare, mai întâi trebuie să se răspundă la întrebările de bază.

În vara anului 2014, titlurile din revista *Nature* au atras atenția: „Terapia cu fagi se revitalizează". Iar o altă maree era de-a dreptul provocatoare: „Epoca fagilor: este timpul să folosim din nou viruși care ucid bacteriile". Din nou! Ne punem la curent. Minunat! Unde vor fi utile terapiile cu fagi? Aplicațiile cele mai potrivite sunt pe suprafețe. Arsurile sunt printre principalele indicații pentru terapia cu fagi. Un consorțiu internațional a fost înființat recent și este susținut financiar pentru tratamentul arsurilor de către cel de-al 7-lea program-cadru european, denumit Phagoburn, în cadrul căruia rănile provocate de arsuri infectate cu bacteriile *E. coli* și *Pseudomonas aeruginosa* vor fi tratate cu suspensii de fagi.

În plus, au fost raportate succese impresionante în cazul degetelor diabetice, care apar ca o consecință a obezității și a diabetului; această afecțiune afectează sau amenință aproximativ 6 milioane de persoane în America și 600 de milioane de adulți în întreaga lume. În cadrul unei conferințe științifice desfășurate la Zurich în 2015, au fost descrise degetele diabetice înainte și după tratamentul cu cocktail de fagi; acestea s-au vindecat în câteva săptămâni, iar terapia cu fagi a făcut inutilă amputarea. Au fost prezentate fotografii impresionante. Nicio altă terapie nu o poate înlocui pe aceasta, deoarece, în funcție de adâncimea plăgii (care poate ajunge până la os), sunt active diferite tulpini bacteriene și, prin urmare, este necesară prezența diferitor fagi în cocktail. Ce poveste de succes extraordinară! Rănile de la nivelul membrelor inferioare, *Ulcus cruris*, care adesea nu se vindecă niciodată, au fost, de asemenea, tratate eficient cu ajutorul unor cocktailuri de fagi cu spectru larg. Un astfel de succes justifică intensificarea eforturilor. De asemenea, persoanele în vârstă din căminele de bătrâni, care sunt amenințate de lipsa de mobilitate și de plăgile de presiune (decubit), care nu se vindecă ușor, ar beneficia de terapiile cu fagi. Infecțiile cronice ale urechii medii și fibroza chistică, cu infecții bacteriene în plămâni, sunt, de asemenea, ținte importante ale fagilor. Unii chirurgi tratează rănile sau catgut-ul (firul) chirurgical cu fagi pentru a împiedica bacteriile să pătrundă atunci când cos rănile de la operație, pentru a preveni infecțiile nosocomiale. Este nevoie urgentă de fagi împotriva *Staphylococcus aureus* rezistent la meticilină (MRSA). Pentru Germania au fost raportate 600 000 de persoane infectate și 15 000 de cazuri de deces. Aceasta este probabil o subestimare și se ridică la un număr de decese mai mare de 40.000, poate 60.000. Există și alți microbi rezistenți, cum ar fi bacteriile ESBL (beta-lactamază cu spectru extins) sau VRE (enterococi rezistenți la vancomicină). Chiar și turiștii care vizitează India se molipsesc de ESBL rezistente, în mai mult de 50 % din cazuri în decurs de două săptămâni, dar bacteriile par să dispară rapid din nou acasă - cel puțin la persoanele sănătoase. Milioane de oameni din întreaga lume vor muri din cauza bacteriilor rezistente la antibiotice. Iar summitul G7 din Germania din 2015 a avut bacteria MRSA în fruntea listei sale de priorități pentru noi acțiuni, inclusiv reducerea utilizării antibioticelor la oameni și animale. Chiar și înlocuirea șoldului regelui Spaniei a fost complicată de infecția cu MRSA. Acesta a trebuit să fie supus unor intervenții chirurgicale repetate - și în cele din urmă a abdicat (și din alte motive!). Prin urmare, nu este vorba doar de găsirea celor mai buni medici, lucru pe care probabil l-ar fi făcut oricum.

Unele țări, cum ar fi Olanda sau Norvegia, solicită pacienților, lucrătorilor din domeniul sănătății, angajaților și studenților certificate care să ateste că au fost testați negativ pentru MRSA înainte de a intra în spital. În cazul în care nu pot prezenta certificatul, aceștia sunt trimiși înapoi acasă cu instrucțiuni privind modul de curățare. În Scandinavia, cazurile de urgență sunt cazate separat până când au fost examinate și au fost testate negativ. Această practică este nemaiîntâlnită în Germania.

Un vecin din orașul meu natal de la malul Mării Baltice a suferit de ruperea unui anevrism aortic abdominal complicat de o infecție bacteriană, care este dificil de controlat sau de vindecat. De asemenea, Feodor Lynen, laureatul german al Premiului Nobel pentru medicină, a murit din

cauza complicațiilor unui anevrism prin infecție bacteriană a abdomenului. Poate fi de ajutor fagoterapia acolo? Dacă cineva nu se mai poate deplasa la Institutul Eliava din Tbilisi, poate totuși să trimită un tampon și să comande un cocktail de fagi, conform informațiilor de pe site-ul internet al institutului - pe care le-am verificat printr-un apel telefonic. Cu toate acestea, mi s-a spus că va dura ceva timp, deoarece trebuie să crească bacteriile și să efectueze serii de teste pentru a le testa sensibilitatea față de o serie de fagi, pentru a le găsi pe cele potrivite. A durat prea mult pentru acest pacient. Fagii pot ajunge în nișe și găsesc chiar și bacterii ascunse pentru a le distruge. Fagii se dezvoltă mai bine atunci când sunt mai multe bacterii în jur. În prezent, chiar și Institutul de Microbiologie Medicală al Universității din Zurich se implică în unele studii cu terapii cu fagi și a început să coopereze cu Institutul Eliava. UE a finanțat recent un laborator de siguranță în Tbilisi, pentru a garanta un control mai bun al calității producției de fagi. Lucrurile încep să se miște. Aceasta este medicina personalizată și se autolimitează atunci când nu mai există bacterii. Unii oameni o consideră medicină „alternativă”, dar să așteptăm și să vedem.

Viziunea mea este de a utiliza fagi pentru a elimina contaminările bacteriene rezistente din spitale - ar fi un succes uriaș. Curățarea unei săli de operație cu un spray cu fagi mi se pare fezabilă. Cu toate acestea, medicii și colegii sunt pesimiști, întrebând ce fagi ar trebui folosiți și cum se poate ști care sunt cei potriviți nevoilor. Ar fi nevoie de un amestec de mai mulți fagi, în speranța că unii se vor potrivi, așa cum d'Herelle știa deja acum o sută de ani. Apoi, există argumentul comercial conform căruia nu se pot utiliza fagi în afaceri, deoarece aceștia sunt bine cunoscuți și nu pot fi brevetați. Cu toate acestea, un amestec ar putea fi brevetat - de ce nu? Există unele companii, precum Intralytix din SUA, care dezvoltă fagi împotriva bacteriilor precum Listeria (un pericol pentru un produs gastronomic, brânza elvețiană Vacherin, dar și pentru alte produse alimentare), precum și împotriva Salmonella și a unei tulpini periculoase de *E. coli* (E. coli 0157). În India, societatea GangaGen încearcă să lupte împotriva bacteriilor periculoase, distrugând *Staphylococccus aureus* colonizator nazal cu ajutorul fagilor, „StaphTame”. În 2012, o reuniune susținută de EMBO și armata belgiană a avut loc într-o cazarmă din Belgia. O astfel de combinație, precum și o astfel de locație, nu mai fuseseră întâlnite până atunci. Dar ambele au fost potrivite: armata a fost primul client și încă este unul important. Organizatorii au rezervat o zi întreagă din cele cinci pentru prezentări privind terapia cu fagi. Cineva trebuie să-și fi amintit de soldații care au fost vindecați în 1939. Un dentist a menționat că a încercat să utilizeze fagi pentru a preveni infecțiile bacteriene ale implanturilor, care pot duce la complicații periculoase, cum ar fi infecția cu *Clostridium difficile* - un efect secundar al tratamentului dentar cu un rezultat potențial fatal. Epoca fagilor a sosit. (Pentru o descriere detaliată a unui caz, a se vedea mai jos).

Multe lucruri vorbesc în favoarea utilizării fagilor: aceștia se auto-dozează (cu cât sunt mai multe bacterii, cu atât mai mulți fagi vor crește pentru a le ucide) și se autolimitează (mor atunci când nu mai există bacterii). Acest lucru este unic! Nu în ultimul rând: terapia cu fagi este ieftină - un mare avantaj pentru țările în curs de dezvoltare. Cele mai potrivite ținte pentru tratament sunt rănile sau plăgile umede deschise, care pot fi atinse din exterior și permit multiplicarea fagilor. Fagii înghițiți vor muri în timpul trecerii prin stomac, astfel încât trebuie să fie încapsulați în pastile pentru tratarea infecțiilor intestinale.

Care sunt limitele și pericolele terapiei cu fagi? Fagii transferă gene prin transfer orizontal de gene. Nu este permis transferul genelor precum cele care conferă rezistență la antibiotice. În plus, fagii pentru uz uman nu au voie să se integreze în genomul bacterian; ei trebuie să fie litici, ceea ce înseamnă că se multiplică și apoi lizează și distrug bacteria. Acest lucru amintește de noua terapie anticancer cu viruși „oncolitici”, care, de asemenea, se multiplică și apoi lizează și distrug celulele tumorale - același principiu.

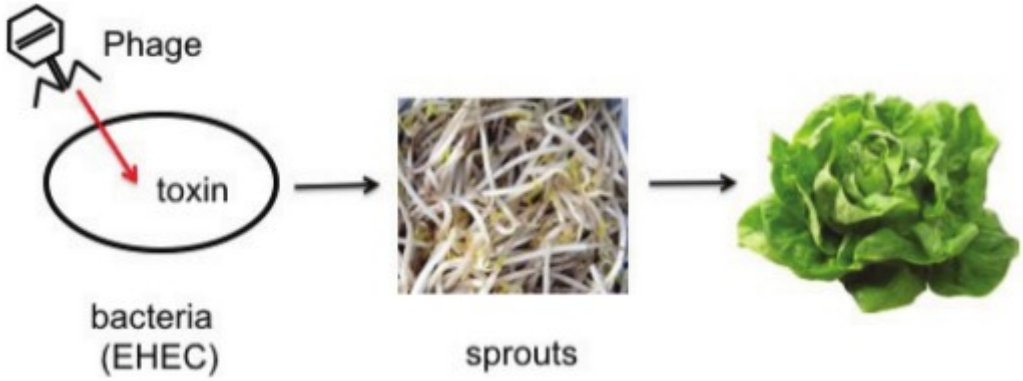
Totuși, există unele efecte secundare importante care trebuie excluse. Pot fagii să afecteze genomul bacterian și, eventual, să inducă noi tulpini rezistente la fagi? Bacteriile rezistente, cele care nu pot fi ucise de fagi, reprezintă o preocupare majoră, deoarece bacteriile își pot modifica receptorii de suprafață și pot împiedica intrarea fagilor. Prin urmare, sunt necesare terapii multiple. Știm, cel puțin de la introducerea cu succes a terapiilor anti-HIV, că terapiile multiple sunt superioare monoterapiilor. Și D'Herelle știa deja acest lucru, acum 100 de ani. Prin urmare, trebuie

efectuate multe experimente de control, care sunt cerute de autoritățile sanitare. Reglementările care reglementează utilizarea la om sunt enorme.

Știm multe despre fagi în laborator, deoarece, timp de 50 de ani, fagii au constituit un domeniu major de cercetare pentru biologii moleculari. Contribuția celebrului specialist în fagi Max Delbrück, care a introdus fagii ca sistem model pentru viață (prezentând proprietățile de replicare și mutageneză), merită creditul pentru deschiderea domeniului fagilor. Astfel, știm multe despre mecanismele moleculare ale fagilor, dar numai în laborator și nu atât de mult în viața reală sau în habitatele naturale, cum ar fi intestinul. Acolo, totul pare să fie destul de diferit. În laborator, fagii T4 (tip 4) cresc lent, iar fagii T7 (tip 7) cresc rapid, însă în intestin nu există nicio diferență. Probabil că acest lucru depinde și de fiecare intestin în parte. Înainte ca fagii să ne poată salva viața, va trebui să învățăm multe despre comportamentul lor la pacienți. Ceea ce trebuie să învățăm este specificitatea fagilor pentru bacteriile respective. În această privință, antibioticele sunt mult superioare fagilor: sunt eficiente chiar dacă bacteriile împotriva cărora trebuie să acționeze nu sunt cunoscute. Cu toate acestea, situația se schimbă, nu în ultimul rând din cauza apariției rezistenței bacteriilor la antibiotice, care necesită testarea prealabilă a antibioticelor pentru a afla care dintre acestea sunt eficiente într-o anumită situație. În primăvara anului 2012, OMS a declarat că a sosit sfârșitul erei antibioticelor. De asemenea, Cold Spring Harbor Laboratory a dedicat o întreagă conferință acestui subiect: o conferință Banbury, un *think-tank* (grup de reflecție) pentru viitor. Timpul se scurge. În 2016 urmează să aibă loc la Paris prima reuniune mondială a fagoterapiei.

Varza de fasole otrăvită de fagi

Trebuie să avertizez cititorul, deoarece laudele mele la adresa fagilor pot fi înșelătoare. Ca toți virușii, și ei pot face rău. Dar dacă o fac, atunci trebuie să ne învinovățim, pentru că noi suntem responsabili de patogenitatea și bolile lor. Iată încă un exemplu: alarma alimentară provocată de EHEC în 2011 în Hamburg, Germania, care a fost cauzată de viruși bacterieni, adică de fagi. EHEC este o bacterie, *Escherichia coli* enterohemoragică, care este înrudită cu bacteriile intestinale inofensive. EHEC a apărut deoarece fagii au transferat gene pentru toxina Shiga. Aceasta provoacă diaree sângeroasă și alte complicații, dintre care unele sunt mortale pentru oameni. Aproximativ 3900 de persoane au fost infectate, aproape o mie s-au îmbolnăvit grav și 35 au murit. Astfel de bacterii nu ar trebui să ajungă niciodată în decorarea salatelor. Ele provin din fecalele animalelor și nu ar fi trebuit să intre în lanțul alimentar uman.



Fagii cu gene otrăvitoare (toxine) - bacterii infectate (EHEC) au fost utilizați ca îngrășământ pentru germeni și au fost ingerați cu salată de către oameni, ceea ce a provocat un scandal alimentar.

Stăteam la prânz la Institutul pentru Studii Avansate din Princeton, iar colegii se întreceau cu agențiile germane, care încercau să găsească cauza epidemiei de EHEC. Castraveți sau roșii? Nici vorbă, spuneau ei - germeni de fasole! Aceasta a fost prima lor reacție. Se confruntaseră cu mai mult de o astfel de epidemie în SUA. Toată lumea știa despre asta - în afară de mine, care nu auzisem niciodată de ea. Germenii de fasole sunt cultivați în camere calde și umede, care sunt

condiții optime de creștere nu numai pentru germenii de fasole, ci și pentru dezvoltarea bacteriilor - mai ales dacă bacteriile provin din fecalele animalelor folosite ca îngrășăminte. Bacteriile au fost infectate cu fagi otrăvitori, care exprimă toxine. Este posibil ca îngrășămintele animale să fi provenit din Egipt. Acest lucru a provocat una dintre cele mai grave alerte alimentare din Germania din ultimele decenii. „Sunați la Institutul Robert Koch din Berlin și spuneți-le", i-au îndemnat colegii mei din Princeton. La Berlin, aceștia au petrecut săptămâni întregi triând hârtiile de livrare și facturile furnizorilor de alimente către restaurante, încercând să identifice posibilele cauze, deoarece niciun pacient nu își amintea să fi mâncat în urmă cu câteva săptămâni germeni de fasole pe o farfurie de salată. Prin urmare, interviurile cu pacienții nu au ajutat la depistarea cauzei bolii.

Germenii de fasole pot fi văzuți cu ușurință într-o salată. Dar sunt greu de evitat în restaurante! Eu încerc să nu mai mănânc germeni de fasole.

Care este mai murdar, frigiderul sau toaleta?

Niciodată nu ar trebui să dăm mâna când întâlnim pe cineva. Ar trebui să fie interzis, cel puțin în mediul clinic, atunci când ne salutăm cu medicii sau cu personalul medical. Cu toate acestea, strângerea de mână îi face pe pacienți să se simtă bine, așa că nu putem renunța la ea - acesta a fost răspunsul la o reuniune a Facultății de Medicină din Zurich, când am adus în discuție această problemă. De ce să nu-i imitați pe japonezi și să vă înclinați în fața prietenilor? Frecarea nasului în semn de bun venit, așa cum fac inuiții, ar putea fi, totuși, chiar mai rău! În aproape fiecare clinică există acum specialiști în igienă care instruiesc personalul medical cum să dezinfecteze toate suprafețele posibile - în special mâinile. Aceștia folosesc bacterii verde-fluorescente manipulate artificial și le luminează cu ultraviolete pentru a demonstra cât de contaminate sunt lucrurile: stetoscoape, mânere de uși, tastaturi de bancomate, computere, telefoane, butoane în lifturi, telecomenzi de televizoare. Cu toate acestea, de cele mai multe ori NU ne îmbolnăvim. Un sistem imunitar normal are grijă de aceste insecte și chiar are nevoie de ele pentru o pregătire perpetuă. Este un fapt că nu toaleta, ci frigiderul, este locul cel mai contaminat de microorganisme dintr-o gospodărie. Ar trebui să aducem niște bacterii care strălucesc verzi pentru a afla unde este necesară curățarea? În restaurantele fast-food McDonald's toaletele sunt mai curate decât tăvile, potrivit unui reportaj TV. Scaunele din metroul din New York sunt printre cele mai contaminate locuri, unde microbii rezistă o săptămână. Dar scaunele din avioane? Mi s-a părut greu de crezut și m-am întrebat dacă acest documentar nu a înțeles greșit.

Nu ar trebui să ne speriem în viața noastră de zi cu zi. Regula ar trebui să fie să vă spălați pe mâini când veniți acasă înainte de a găti, iar în spitale există reguli speciale de spălare a mâinilor: folosiți săpun, spălați cinci regiuni diferite (în principal vârful degetelor și degetul mare) timp de 30 de secunde în total. La 15 octombrie se sărbătorește o zi internațională a spălatului mâinilor, pentru a crește gradul de conștientizare a igienei la nivel mondial. Bacteriile pot fi infectate cu fagi purtători ai genei pentru proteina fluorescentă verde (GFP), care poate fi detectată prin aprinderea unei lămpi ultraviolete asupra lor. Acest test este superior tehnicii PCR, deoarece se poate face diferența între bacteriile vii și cele moarte, ceea ce PCR nu poate face. GFP este sintetizată numai de bacteriile vii și este detectată prin fluorescență. Un fag cu proteină fluorescentă poate fi, de asemenea, aplicat la controlul alimentelor, cum ar fi specialitatea elvețiană Vacherin, pentru a verifica contaminarea. Există chiar și un departament la ETH, Zurich, specializat în această tehnologie. Peștele, somonul, creveții, puii, hamburgerii sau cârnații au fost testați în acest fel și, dacă este necesar, retrași de pe piața din Elveția - acest lucru s-a întâmplat deja de mai multe ori.

Fagii pot fi concepuți pentru a ucide bacteriile. Ei sunt pulverizați pe ouăle de găină care sunt utilizate pentru producerea vaccinului împotriva virusurilor gripale. Chiar și puii destinați aprovizionării cu alimente sunt pulverizați cu fagi înainte de a fi ambalați. Fagii sunt aplicați pe cartofi pentru a dezinfecta bulbii de cartofi înainte de plantare, ceea ce, potrivit oamenilor de știință olandezi, a dus la un randament de cinci ori mai mare al culturilor. Dușurile cu fagi sunt aplicate și strugurilor pentru o recoltă mai bună. În Coreea de Sud, chiar și laptele este uneori tratat cu fagi pentru a-l steriliza; acolo, fagii înlocuiesc procedura de pasteurizare (care presupune încălzire). Nu

pot citi descrierea produsului pe ambalajele de lapte coreene, așa că nu știu dacă oamenii sunt informați despre acest lucru. Poate că mulți consumatori ar refuza să cumpere lapte dacă ar ști că acesta a fost tratat cu viruși! Este un astfel de tratament bun sau rău? Ar trebui să folosim fagii în creșterea animalelor pentru a înlocui antibioticele, care produc prea multe bacterii multirezistente.

ETH din Zurich oferă programe pentru întreprinderile nou-înființate, „*Start your own company*”, ceea ce mi-ar plăcea să fac. Am discutat cu mai mulți colegi despre aplicațiile cu fagi ca profil de companie. Cu toate acestea, toți s-au opus: fagii sunt prea greu de manipulat și, în plus, nu se mai pot obține drepturi de brevet, deoarece fagii sunt deja cunoscuți - „artă anterioară”. Cu toate acestea, cred că se pot face și bani cu săpunul! Poate că un cititor se poate folosi de o idee de afaceri de acest gen. Mă gândesc la fagi pentru eliminarea contaminării bacteriene în unitățile de terapie intensivă din spitale. Pentru a ucide bacteriile, ar trebui să încheiem alianțe cu fagii. În plus, aceștia ar putea avea un mare viitor în industria alimentară. Utilizarea fagilor nu este limitată de legile privind OMG-urile (organisme modificate genetic), care restricționează alte produse modificate genetic. Fagii se află pe partea exterioară a unui produs. În mod normal, consumul lor nu este periculos. Și dacă totuși nu doriți - pur și simplu clătiți-i!

„Cazul Zurich” privind transferul fecal

Într-o zi, o colegă de la Universitatea din Zurich a venit în biroul meu. Voia să știe dacă aș putea să aflu, în timpul unei reuniuni internaționale, ce fel de opțiuni terapeutice ar putea exista împotriva *Clostridium difficile* (C. diff.). Tocmai primea a treia rundă de doze foarte mari de antibiotic (Vancomicină) împotriva C. diff. Ori de câte ori doza se încheia, ea suferea din nou de diaree severă. Cu aproximativ doi ani înainte, fusese tratată de un dentist și suferise o infecție bacteriană a maxilarului. Antibioticele nu pătrund ușor acolo, iar oasele au un metabolism destul de lent. În consecință, terapia a fost dură. A necesitat mai multe runde de diverse antibiotice în doze mari timp de mai multe luni. Rezultatul a fost o microflora intestinală distrusă, în care a rămas o singură bacterie și a crescut: C. diff. Sună ironic, dar singura modalitate de a scăpa de aceste bacterii rezistente - cauzate de antibiotice - este prin tratament cu un antibiotic specific din nou. A mai rămas doar unul eficient: Vancomicina.

Cu această problemă în minte, în 2008 m-am dus la Paris, la Institutul Pasteur, unde fagii fuseseră descoperiți cu 100 de ani mai devreme, pentru a participa la un congres internațional privind VOM, Virușii Microbilor. Cu toate acestea, nu era nimic nou, niciun vorbitor, niciun poster nu menționa nimic nou despre C. diff. - nicio speranță la vedere. Apoi am fost invitat și la un summit mondial de virusologie în Busan, Coreea. Niciodată nu au fost atât de puțini participanți la un astfel de eveniment, ceea ce a fost iritant; totuși, puținii participanți au rămas împreună mai mult decât de obicei în timpul reuniunilor, discutând în profunzime unii cu alții. În timpul micului dejun, am ridicat întrebarea mea permanentă despre terapiile împotriva C. diff. Un coleg a citat imediat un articol din *The New York Times* și a promis să îmi trimită informații. Răspunsul a fost: transferul fecal (FT), adică **transplantul de materii fecale**.

Înapoi la Zurich, am colectat rapoarte din baza de date „PubMed”, cel mai important depozit de literatură științifică din lume în domeniul biologiei, medicinei și altele asemenea. Această terapie este utilizată din 1950, iar rezultatele au fost publicate în urma a peste 200 de studii efectuate în aproximativ 10 țări. Sute de pacienți au primit FT până acum. Chiar și vacile bolnave au fost supuse FT încă de acum 300 de ani, cu fecale de la vaci sănătoase, o metodă numită „transfaunare”. Vacile aveau o deschidere pe spate pentru FT - imagini înfiorătoare! Și în China o „supă galbenă” a fost folosită cândva ca terapie - conținea fecale umane fermentate - acum 3000 de ani. Beduinii mănâncă fecalele cămilelor lor ca terapie.

FT se realizează prin intermediul unei clisme, un fel de seringă din spate sau printr-un tub nazal în intestin. Donatorii de materii fecale sunt în mod normal rude, care furnizează o lingură de fecale, ceea ce este suficient. Acesta este diluat, filtrat și perfuzat. Trebuie efectuate în prealabil mai multe teste diagnostice de precauție pe materiile fecale ale donatorului pentru a evita transmiterea unor virusuri precum virusurile hepatitei sau HIV. Toxinele prezente în scaunul primitorului

dovedesc prezența unei infecții cu C. diff. Unele grupuri au elaborat chestionare pentru pacienți, care pot fi descărcate de pe internet. Pacienta din Zurich a fost imediat dispusă și dornică să primească acest tratament. Ea a înțeles că înlocuirea microbilor ei distruși cu microbi proaspeți din scaunul sănătos i-ar furniza imediat intestinului mii de tipuri diferite de bacterii - fagi, viruși și *archaea* - pe care singură nu le-ar putea construi niciodată de la zero. Tocmai apăruseră rezultatele proiectului privind microbiomul uman (2010), care demonstrau că oamenii au aproximativ 1,5 kg de bacterii, însumând un total de 10^{14} bacterii în intestin, și mai mult de o mie de specii diferite. Avem nevoie de ele pentru a digera o parte din alimentele noastre. Funcționarea defectuoasă a acestei comunități bacteriene provoacă numeroase boli. Microbii, bacteriile, *arhaea*, ciupercile și virușii duc o viață de coexistență pașnică, nu într-un „război" permanent. De unde ar trebui să provină bacteriile după o antibioterapie devastatoare? Medicamentele probiotice sau iaurtul conțin între 5 și 10 specii, ceea ce este departe de a fi suficient. Colegii de la Facultatea de Medicină din Zurich nu au fost dispuși să efectueze o astfel de terapie. Nu am fost luat în serios și mi s-a spus chiar să-mi țin gura ca non-medic - deși eram membru al Facultății de Medicină. Dar pacienta a insistat. În caz contrar, ea ar fi efectuat procedura singură acasă! Asta citise ea. Din fericire, există suficienți medici la Basel, sau la Freiburg, sau în orașe îndepărtate precum Australia, SUA sau Scandinavia. Așa că în cele din urmă i-am convins pe colegii elvețieni. La numai o săptămână după tratament, pacienta m-a sunat și mi-a spus că se simte sănătoasă - după mulți ani de suferință.

Am colectat probe de scaun de la donator și de la primitor la început și la mai multe momente ulterioare, de la câteva luni până la cinci ani, pentru a ține o evidență a modificărilor compoziției microbiene prin utilizarea unei metodologii actualizate: secvențierea microbiomului. Această abordare colectează informații de la toate bacteriile și alte microorganisme în același timp, fără a face distincție între ele. Acidul nucleic total trebuie extras din proba de fecale, ceea ce s-a dovedit a fi mai dificil decât se anticipase - nu era chiar o procedură standard într-un laborator biochimic! Secvențele obținute din probe pot fi apoi comparate cu secvențele cunoscute ale microorganismelor depuse în baze de date complete. Am analizat, de asemenea, virusomul - toți virușii în același timp. Cantitatea de date obținute a fost într-adevăr gigantică. Un hard disk a fost transferat, bine protejat în geanta mea, între Zurich și Berlin, cu sute de terabytes de date pe el. Cele mai mari computere de la ETH și MPG au fost ocupate zile întregi pentru a procesa datele. Compoziția florei intestinale era un amestec între cea a pacientului și cea a donatorului, iar periculoasa C. diff. dispăruse. Bacteriile intestinale normale de la donator le depășiseră și le înlocuiseră pe cele periculoase. Acesta este comportamentul normal de protecție al bacteriilor: cele sănătoase le învinge pe cele periculoase, unde „sănătoase" înseamnă bacteriile „noastre", cele care fac parte dintr-un ecosistem stabilit, deși nu există o definiție generală. Bacteriile sănătoase ne mențin sănătoși!

Am găsit aproximativ 100 de tipuri de bacterii în fiecare probă fecală, doar o zecime din numărul la care mă așteptam. Apoi am detectat unele *archaea*. Funcțiile *archaea* în intestinul nostru nu sunt bine cunoscute, dar ar putea fi importante pentru digestie și au mai fost găsite în fecalele umane, ceea ce indică faptul că nu toate *archaea* sunt extremofile. În plus, am identificat și 22 de virusuri; 21 dintre acestea erau fagi, iar unul era un fel de virus *Chlorella*, un virus gigant din alge. Nu ne așteptam la un astfel de virus și nici James Van Etten, care studiază acest tip de virus, când i-am spus la telefon. A fost pentru prima dată când un virus gigant a fost găsit într-o mostră de fecale umane. Pacienta a devenit nervoasă, dar nu avea de ce să fie, deoarece virusurile gigant nu sunt cunoscute ca fiind cauza unor boli. Am întrebat-o dacă are vreo preferință alimentară, cum ar fi sushi. Nu, nu avea; dar apa obișnuită de la robinet din conductele casnice poate conține, de asemenea, acest virus gigant. Ne așteptam la de 100 de ori mai mulți fagi, dar nu atât de puțini. Să se fi datorat acest lucru pregătirii probelor în condiții neoptimale - folosind metode concepute pentru genomuri bacteriene mai mari și nu pentru genomuri de fagi mici? Ulterior, alții au arătat că un microbiom sănătos adăpostește fagii în stare integrată în genomul bacterian și că aceștia nu apar ca fagi liberi, cu excepția bolilor. Astfel, acesta a fost poate un alt indicator al conținutului bacterian intestinal normalizat al pacientului. Am urmărit pacienta timp de cinci ani și nu a avut niciodată nicio problemă, iar antibioticele pe care a trebuit să le ia de două ori din alte motive nu i-au

provocat niciun rău. A fost efectuat un studiu sistematic, inclusiv grupuri de control, iar rezultatele acestuia au fost publicate de cercetătorii olandezi în 2013. Acesta a arătat că transferul fecal a fost chiar mai bun decât în rapoartele de caz anterioare, ceea ce face ca această abordare terapeutică să fie acum legitimă.

Ce altceva se poate aştepta în scaun poate fi dedus din studiul liliecilor. Se ştie că acestea adăpostesc mulţi viruşi - probabil ca o consecinţă a stilului lor de viaţă, atârnând cu capul în jos, strâns strânse, de tavanul peşterilor, cu grămezi de fecale înalte de metri sub ele. Mulţi dintre liliecii bolnavi pot muri; supravieţuitorii rezistenţi nu se mai îmbolnăvesc, dar pot transmite viruşii. (Unii oameni de ştiinţă suspectează că liliecii au sisteme imunitare diferite, ceea ce trebuie confirmat). Unele dintre virusurile transmise de lilieci sunt virusuri umane patogene, cum ar fi SARS corona, Ebola, virusurile Hanta şi 66 de paramixovirusuri diferite, cum ar fi virusul rujeolei şi multe altele.

Colegii din Zurich văd acum pacienţi care călătoresc de departe şi au primit un grant de cercetare de aproximativ 2,3 milioane de franci elveţieni pentru a investiga pacienţii cu, de asemenea, pentru alte boli gastrointestinale, cum ar fi boala Crohn sau boala inflamatorie intestinală (IBD). Procedura de transfer fecal poate fi efectuată chiar şi la domiciliu, după cum a explicat pacientul nostru spre surprinderea tuturor într-o emisiune de televiziune, vorbind despre o baie, un blender de bucătărie şi scutece ca filtru - instrumente disponibile în fiecare bucătărie sau gospodărie. Cu toate acestea, aş sfătui cu tărie persoanele interesate să consulte un medic. Cel mai recent, se pot comanda chiar şi mostre de scaun pretestate pe internet. Metoda va deveni mai practică dacă se vor găsi donatori universali - dacă „o mărime se potriveşte tuturor", atunci nu vom mai avea nevoie de donatori individuali. Au apărut, de asemenea, câteva companii *start-up* care vând eşantioane de calitate controlată. Nu am auzit încă niciun raport despre utilizarea lor sau despre rata de succes. De asemenea, sunt în curs de lansare pe piaţă pastile de scaun acoperite cu gelatină; acestea pot fi înghiţite fără perfuzie. La Institutul Sanger din Hinxton, Marea Britanie, Trevor Lawley dezvoltă cea mai bună combinaţie din 18 bacterii în grupuri de câte şase ca medicament. Primele rezultate la şoareci au fost promiţătoare. Întrebările deschise se referă la stabilitatea terapiei, la durabilitatea acesteia şi la posibilele sale efecte secundare. A fost raportat un caz în care un pacient a luat în greutate după aceea. Acest lucru s-a datorat FT sau obiceiurilor alimentare, care cu siguranţă trebuie să se schimbe după un astfel de tratament? O persoană a primit un FT, dar avea leziuni în intestin; a supravieţuit unei septicemii ulterioare, dar astfel de leziuni ar trebui să excludă un pacient de la tratament. De asemenea, a fost raportată o terapie cu fagi; aceasta conţinea numai fagi din scaunul unui donator şi nicio bacterie. Probabil că producătorii de iaurt se înarmează deja şi cu produse mai complexe.

Iniţial, nu au existat reglementări privind FT. Cu toate acestea, în 2014, NIH a oprit procedura FT. O organizaţie de pacienţi din SUA a depus atunci o petiţie de continuare, deoarece nu exista niciun alt tratament pentru o infecţie care pune viaţa în pericol, cum ar fi C. diff. În acest context, tratamentul a fost aprobat din nou, dar numai pentru pacienţii la care tratamentele anterioare au eşuat. O cerere pentru un medicament nou experimental (IND) este încă necesară, iar autorităţile elveţiene de reglementare au urmat această decizie. Cu toate acestea, FT împotriva obezităţii nu este aprobat - şi nu este durabil, deoarece are doar un efect tranzitoriu. Acest lucru este în curs de investigare pentru bolile intestinale. Procedura este incredibil de simplă şi poate fi repetată dacă eşuează, deşi eşecul este rar, cu o rată de succes mai mare de 90%. De asemenea, este ieftină, nu doare, poate fi repetată şi poate fi aplicată în toate părţile lumii.

Între timp, am avut şi eu o infecţie dentară gravă. Înainte de a urma un tratament cu antibiotice, am recoltat acasă o lingură dintr-o probă de scaun şi am pus-o într-un tub sigilat în congelator. Adăugarea unui pic de glicerol ar fi fost probabil şi mai bună pentru a proteja proba de deteriorarea cauzată de congelare, dar nu aveam acasă. Dentistul meu nu a vrut să creadă ce am făcut, dar sunt sigur că într-o zi aceasta va deveni o practică standard. La urma urmei, unii oameni chiar păstrează sângele din cordonul ombilical al nou-născuţilor ca o „asigurare de viaţă" împotriva bolilor pe care le-ar putea dobândi mai târziu în viaţă - adesea un cadou oferit sugarului de bunicii prevăzători. Cu toate acestea, microbiomii scaunelor suferă modificări odată cu înaintarea în vârstă, ceea ce trebuie reţinut.

Infecțiile cu C. diff. sunt în creștere într-un ritm înfricoșător de rapid. În Germania există 150 000 de cazuri de spitalizare în fiecare an și aproximativ 15 000 de decese, în timp ce în SUA există aproximativ 500 000 de pacienți, dintre care aproximativ 15 % (75 000) au deces. Ce măsuri sunt luate în rutina clinică zilnică? Niciuna în cazul pe care îl cunosc eu. S-a întâmplat să aud un apel telefonic urgent într-un spital, seara târziu, de la departamentul de diagnosticare - un pacient a fost testat pozitiv cu C. diff. Pacientul era prietenul pe care îl vizitam. A doua zi am venit echipat cu halat, mănuși și un săpun special (deoarece Sterillium pe bază de etanol este ineficient în acest caz). Nu mi s-a permis să folosesc nimic din toate acestea și nici nu luase nimeni - personal sau medici - nicio măsură de protecție. Nimeni nici măcar nu trebuia să știe: „Nu provocați panică, vă rog! Apropo, cum ați aflat?”. Asta era singura lor grijă! Oare pacientul a contractat infecția în spital - mă întreb? Spitalele sunt cel mai frecvent loc de infectare cu C. diff. Sunt încă afectat și deprimat de moartea ulterioară a acestui prieten apropiat. Avem nevoie de o mai bună formare a medicilor și a personalului.

Ce trebuie să facem? Să ne spălăm pe mâini. Asta nu este tot, desigur, dar este un bun început. „Regula celor cinci” de spălare a mâinilor este următoarea: săpuniți palma, părțile laterale, spatele, degetele și degetul mare timp de 10 secunde fiecare, apoi uscați-le cu un prosop curat. În 2013, în Germania a fost instituit un premiu special Robert Koch pentru igiena spitalelor. Cu toate acestea, nicio asistentă medicală nu se poate spăla pe mâini de 100 de ori pe zi....

Cum să luptăm împotriva obezității

În timpul unei reuniuni pentru a sărbători cea de-a 200-a aniversare a lui Charles Darwin, am întâlnit o fostă prietenă, cu care studiasem biologia moleculară la Universitatea California din Berkeley, cu zeci de ani înainte. Ea era președinta unei sesiuni importante - o mare onoare - și publicase, de asemenea, mai multe manuale. Fusese numită profesor de biochimie la Berkeley cu 40 de ani în urmă. Deja atunci, în SUA exista o „cotă” de gen: o femeie trebuia să fie numită înainte ca un bărbat să poată deveni membru al facultății. În Europa, nimeni nu auzise încă de așa ceva. A fost tratată rău - și s-a îngrășat. Acum îi este greu să își părăsească apartamentul cu vedere spectaculoasă asupra Central Park din New York. Cutiile cu mâncare instantanee pentru diete s-au adunat în rafturile ei. Medicii o trimit acasă. „Exerciții fizice” este singura instrucțiune pe care o primește. Merge cu bicicleta prin New York. Chiar și în calitate de profesor de biochimie a avut puțin succes în pierderea în greutate. Dar când am invitat-o la cină, a mâncat mult mai mult decât mă așteptam; altfel i-ar fi fost frig, a spus ea. Evident, metabolismul ei a scăpat de sub control.

Un alt caz se referă la un fost coleg, îngrijitorul de animale al institutului din Berlin, care nu mai încăpea în scaunele de avion din cauza obezității sale extreme; nu-și mai putea încălța pantofii pentru că nu se mai închideau; avea crize de apnee noaptea, un atac de cord, artrită la genunchi din cauza greutății și diabet de tip II. Apoi, în urmă cu câțiva ani, a auzit la televizor despre operația de *bypass* gastric. A fost testat foarte atent și a fost întrebat dacă înțelege consecințele, că nu mai există cale de întoarcere, că nu va mai putea mânca normal, ci doar în porții mici. A fost de acord și acum se simte bine de mai mulți ani - fără niciun regret. A slăbit 60 de kilograme! Acum se simte ca o persoană nouă, iar majoritatea problemelor sale grave, inclusiv diabetul, au dispărut în mai puțin de doi ani. Microbiomul său s-a schimbat, nu numai în intestin, ci și în stomac și chiar în esofag. Vă este foame, l-am întrebat? Nu. Mulți oameni sunt, totuși, prea speriați pentru a se supune unei intervenții chirurgicale atât de severe și de paralizante. Adesea, este necesară mai mult de o operație, deoarece trebuie îndepărtat și excesul de piele. Din cauza greutății corporale a pacienților, sunt necesare mese de operație și lifturi speciale - după cum mi-a spus sora mea, anestezist.

Un al treilea caz poate merită menționat: LipingZhao, de laUniversitatea din Shanghai, care a studiat la Universitatea Cornell din SUA timp de mai mulți ani. În timp ce se afla în SUA, a mâncat mâncare în stil american și s-a îngrășat 30 kg. Când s-a întors acasă, în China, a revenit la un regim alimentar chinezesc. Apoi a testat constant compoziția microbiomului din tractul său digestiv. Au fost necesari doi ani pentru ca microbiomul său să se adapteze din nou la alimentația tradițională chineză. În acești doi ani a slăbit 20 kg, iar microbiomul său s-a schimbat, 80 de tipuri

de microbi din 1 500 fiind diferite. Cea mai izbitoare a fost creşterea speciei bacteriene *Faecalibacterium prausnitzii*, care a crescut de la zero la 14% din microbiomul său total, indicând o compoziţie sănătoasă. Mai puţin de 5% din această specie în totalul bacteriilor intestinale indică obezitate şi boală. În acest caz, este posibil să mai fi existat bacterii reziduale rămase din anii în care mânca mâncare chinezească, care trebuiau doar să crească din nou. Presupun că acest lucru ar putea dura mai mult în alte cazuri. Încă nu există date complete. Cât timp pot supravieţui fostele populaţii de bacterii şi apoi să crească din nou?

Microbiomul persoanelor obeze nu se modifică rapid; oamenii încearcă din răsputeri să îşi schimbe obiceiurile alimentare, dar, în ciuda acestor eforturi, nu revin la greutatea normală sau, dacă o fac, adesea doar temporar. Iar după aceea, un efect de „ricoşeu" duce frecvent la o creştere deosebit de mare a greutăţii corporale. Vârfurile şi coborârile greutăţii sunt uneori numite efect *yo-yo*.

Prin urmare, se dezbate chiar dacă s-ar putea schimba microbii intestinali ai persoanelor obeze cu cei ai unei persoane normale prin FT. Cu toate acestea, un astfel de efect s-a dovedit doar trecător până în prezent. La conferinţe s-a raportat că, după opt săptămâni, microbiomul iniţial îşi revine. Mai ales dacă microbiota intestinală nu este eliminată cu antibiotice înainte de transferul fecal, aceasta câştigă din nou în cele din urmă. Cu toate acestea, nimeni nu doreşte să elimine complet microbiomul înainte de înlocuirea fecalelor. Acest lucru este adecvat doar în situaţii care pun viaţa în pericol, nu doar pentru a pierde în greutate. Prin urmare, FT nu este în prezent o terapie aprobată pentru obezitate.

Studiile recente indică rezultate înspăimântătoare. Există un punct fără întoarcere: dacă microbiomul unei persoane obeze s-a schimbat „prea mult", atunci inversarea este imposibilă. Dincolo de această limită, restricţiile alimentare ar putea să nu permită o vindecare sau o revenire la un microbiom intestinal normal. După cum s-a menţionat, avem nu numai propriul genom uman, ci şi, în plus, un „al doilea genom" de la bacteriile care ne populează, care contribuie cu milioane de gene la al nostru. Ce roluri joacă genele suplimentare? Bogăţia genică a microbiomului persoanelor sănătoase este de aproximativ patru până la cinci ori mai mare decât cea a persoanelor obeze. Acest lucru poate fi chiar cuantificat prin numere, aşa-numitul „număr de gene". Numărul de gene al persoanelor slabe şi al celor obeze diferă semnificativ. Persoanele slabe au nu numai mai multe bacterii, ci şi o complexitate sau varietate mult mai mare de bacterii în intestin, cu un număr de gene de aproximativ 800 000. Aceasta poate scădea la aproximativ 200 000 la pacienţii cu masă corporală mare. Un număr scăzut de gene în microbiom înseamnă că numărul de microorganisme diferite este redus, adică diversitatea bacteriană a scăzut. Bogăţia de gene a devenit un criteriu al sănătăţii.

Se pare că revenirea la un microbiom normal este foarte dificilă şi nu poate fi obţinută prin simpla restricţie alimentară. Microbii devin mai puţin complecşi şi „leneşi" în condiţii de „lux" în intestinele persoanelor obeze. Alimentaţia bogată reduce rata metabolică a microbilor şi diversitatea lor. Aceasta înseamnă stres pentru fagi şi bacterii, care sunt lizate de fagi. Numărul de fagi creşte în consecinţă, un indicator al unui microbiom nesănătos, în paralel cu scăderea diversităţii bacteriilor.

Persoanele obeze adăpostesc adesea microbi care sunt, de asemenea, foarte eficienţi în extragerea caloriilor din dietă - crescând astfel greutatea corporală. Astfel, situaţia unei persoane care a ajuns la o stare de obezitate este foarte complexă şi nu este uşor reversibilă. Pare să existe un punct fără întoarcere! Echilibrul dintre eubiotice şi disbiotice, microflora bună şi cea rea din tractul gastrointestinal, este perturbat ireversibil şi duce la o alterare susţinută a intestinului. Aceste noi rezultate sunt mai degrabă deziluzionante pentru cei care încearcă din răsputeri să slăbească, explică multe dintre eşecurile cu care se confruntă oamenii şi ar putea conduce la noi terapii împotriva obezităţii, care vizează microbiomul. Cel puţin acesta este obiectivul multor cercetători, cum ar fi Joël Dore, care este unul dintre liderii din Franţa în materie de microbiologie alimentară şi intestinală la INRA (Institutul de cercetare agricolă).

O altă surpriză rezultată din studiile privind microbiomul este întrebarea: cine dictează ce? Ce controlează circuitul de reglementare? Microbiomul impune persoanei cererea de hrană sau, dimpotrivă, persoana decide liber cât şi ce să mănânce? Cel mai probabil, este vorba de o influenţă

reciprocă a ambelor. Acest lucru este atribuit „axei intestin-creier”, o cale de comunicare între aceste două organe. Intestinul are 500 de milioane de neuroni, comparativ cu creierul care are 85 de miliarde. Aşadar, există o anumită relaţie şi comunicare. Între intestin şi creier se transmit semnale de la factori stimulatori precum factorul neurotrofic derivat din creier (BDNF), dopamină, stimulatori imunitari, citokine şi metaboliţi secretaţi de bacteriile intestinale, precum acidul butiric. 50% din dopamina, hormonul plăcerii, şi 95% din serotonina implicată în somn, memorie, depresie şi comportament social sunt produse în intestin. Se ştie că morfinele administrate împotriva durerii influenţează atât creierul, cât şi intestinul. Axa intestin-creier se reflectă chiar şi în limbajul nostru: luăm decizii bazate pe „intuiţie” şi avem „fluturi în stomac” când ne îndrăgostim!

Microbii devin specializaţi de obiceiurile alimentare ale gazdei şi dictează ce şi cât să mănânce. Atunci intestinul dictează iniţial, iar mai târziu chiar prevalează asupra creierului? Cine este principalul regulator? Bogăția genică a microbiomului a devenit un predictor testabil al reacției la restricţiile alimentare. Probele pentru numărarea microbilor şi a fagilor pot fi prelevate chiar şi din salivă, deoarece gura şi intestinul sunt conectate. Vor exista consecinţe asupra medicinei preventive. Bacteria numită după bacteriologul german Otto Prausnitz, *Faecalibacterium prausnitzii*, menţionată deja, este un predictor al sănătății independent de bogăția genetică şi de disbioză (microflora proastă). Este o componentă principală. Dacă este slab reprezentată în microbiomul intestinal, împreună cu o bogăție scăzută de specii bacteriene, atunci acesta este un predictor al unui succes scăzut în intervenţia chirurgicală a unei persoane cu boala Crohn. Astfel, anumite tulpini bacteriene sunt importante pentru sănătate, după cum a observat de timpuriu Liping Zhao.

Cea mai mare complexitate a unui microbiom a fost detectată recent la un trib african care trăia, mai degrabă izolat, din orice fel de hrană şi carne disponibilă în habitatul său. Complexitatea microbiomului ca strategie de supravieţuire - merită să ne gândim la asta! Apoi intră în joc şi virușii: complexitatea redusă a microbiomului la persoanele obeze este însoțită de o creștere semnificativă a numărului de fagi liberi. Bacteriile care se confruntă cu condiţii „pline de stres” trec de la comportamentul lizogenic (cronic sau persistent), tipic profagilor cu ADN integrat, la faza lytică, în care bacteriile sunt lizate şi distruse prin replicarea fagilor. Într-adevăr, persoanele obeze cu o complexitate bacteriană redusă prezintă un număr crescut de fagi liberi în intestine. Liza este indusă de stres, oricare ar fi acesta în cazul obezității; printre altele, obezitatea duce la inflamaţii cronice în intestin. Apoi, sistemul de interacţiune dintre bacterii şi fagi duce la liză bacteriană, la eliberarea unui număr mare de progenituri ale fagilor şi la o reducere a diversității bacteriene. Numărul scăzut de fagi se corelează cu un microbiom sănătos. În prezent, acest lucru poate fi măsurat în salivă, ca un test de diagnostic rapid. Şi am ajuns la concluzia că numărul scăzut de fagi pe care l-am măsurat la „pacienta din Zurich” după succesul FT a fost un semn bun: microbiomul său a devenit normal.

Fumatul, chiar şi fumatul pasiv, reduce bogăția genetică a microbiomului intestinal. Ciroza hepatică, indiferent dacă este cauzată de un virus sau de alcool sau de alţi factori, influenţează complexitatea microbiomului. Acesta poate fi utilizat chiar în scopuri de diagnostic, prin determinarea bogăției genice a scaunului unui pacient - o procedură neinvazivă. Chiar şi clasificarea pacientului ca fiind uşor sau grav bolnav poate fi acum măsurată şi definită de microbiom. În prezent, se pot pune diagnostice chiar și pentru tulburări precum bolile cardiace pe baza microbiotei orale.

Mă întreb ce schimbăm în timp ce sărutăm pe cineva sau, mai puțin dramatic, dacă dăm mâna. Acesta din urmă este bine cunoscut ca o cale de infecție - dar sărutul? Săruturile indică fraternitatea. Vă amintiţi sărutul socialist frăţesc dintre Erich Honecker, fostul lider al Germaniei de Est, şi Leonid Brejnev, pe atunci lider al Uniunii Sovietice? - A fost un sărut real, nu doar simbolic! Sărutul este aproape ca o echilibrare a microbiomilor care caracterizează rudenia, cred eu! Nu este o interpretare foarte romantică. Cât de durabilă este aceasta, poate fi o altă întrebare.

Există, de asemenea, factori genetici care contribuie la obezitate - abia acum aflăm despre ei. Există gene care contribuie la obezitate, gene care codifică factorii de saţietate. Un astfel de factor semnalează creierului că aportul alimentar a fost suficient, ducând la senzația de saţietate şi la

încetarea aportului alimentar. Acest lucru poate dura câteva minute - astfel încât unele persoane nu sunt suficient de răbdătoare pentru a aştepta acest semnal şi continuă să mănânce. Există leptine sau gena FTO (sună ca grăsimea - uşor de reţinut), sau factorul neurotrofic derivat din creier, BDNF sau factori de transcripţie precum IRX3 (defectele acestuia duc la o pierdere în greutate de 30% la şoareci). Până la 20 de gene sunt deja pe listă, dintre care unele sunt, totuşi, controversate. Acestea indică probabil mai degrabă o predispoziţie spre obezitate. Astfel, pentru obezitate trebuie luat în considerare faptul că factorii genetici joacă un rol alături de mulţi alţi factori. Acest domeniu de cercetare este încă în fază incipientă. În general, se presupune că obiceiurile alimentare trebuie să fie schimbate, fiind vorba doar de autocontrol şi disciplină. Acest lucru este cu siguranţă adevărat - dar este, de asemenea, o simplificare excesivă. Prin urmare, ar trebui să fim atenţi înainte de a crede că persoanele obeze nu pot fi învinuite decât de ele însele. Un experiment surprinzător a fost realizat cu şoareci „gnotobiotici", aşa-numiţi şoareci de laborator „fără germeni", fără microbiom. Fecalele oamenilor normali şi obezi au fost transferate la aceşti şoareci. Au rezultat astfel şoareci slabi sau graşi, în funcţie de donator: fecalele de la persoanele obeze au condus la şoareci graşi, iar fecalele de la persoanele slabe la şoareci slabi. Materiile fecale transferate au determinat greutatea şoarecilor primitori identici. Cu toate acestea, atunci când şoarecii primitori slabi şi graşi au fost cazaţi împreună într-o singură cuşcă, şoarecii slabi i-au „infectat" pe cei obezi. „Slăbiciunea este contagioasă!" Şoarecii graşi au devenit slabi - şi nu invers. Motivul este probabil faptul că şoarecii se hrănesc cu fecalele celorlalţi în interiorul cuştii. Microbiomul şoarecilor slabi „câştigă" şi domină asupra microbiomului celor obezi. Microbiomul şoarecilor obezi este mai monoton, mai puţin complex, se replică mai puţin abundent, este mai leneş. Microbiota şoarecilor slabi, în schimb, este mai virulentă, mai eterogenă, de o diversitate mai mare şi domină microbiota degenerată. Funcţionează asta doar la şoareci?

Există denumiri pentru bacteriile „bune" şi cele „rele", *Bacteroides* din intestin şi *Firmicutes* - a trebuit să învăţăm acest lucru şi din studiile noastre privind microbiomul cu pacientul din Zurich. Bacteroidele (B) sunt mai puţin eficiente în exploatarea alimentelor şi mai puţin frecvente la persoanele sănătoase, aproximativ jumătate din frecvenţă. În schimb, *Firmicutes* sunt mai frecvente la persoanele grase (amintiţi-vă de F) şi mai eficiente în exploatarea caloriilor din alimente. Cititorul ar trebui să-şi amintească şi raportul dintre cele două, **F** mai mic decât **B** este mai bun (F < B este mai bun). Sună ca colesterolul bun şi colesterolul rău, al căror raport toată lumea încearcă să şi-l amintească, raportul „său", care „speră" că va preveni un atac de cord. Acum am putea avea în curând monitoare sau o aplicaţie pe ceasurile noastre inteligente despre compoziţia microbiomului nostru! „Ce mai fac Bacteroidele tale?" ar putea fi întrebarea din viitor în loc de "Ce mai faci?" Totuşi, care este raportul „corect"? Cele bune s-ar putea să nu fie bune în toate circumstanţele. Aşa că totul este mai complicat.

Într-o zi vor exista cu siguranţă extracte sau pastile cu bacterii „bune". Indiferent de proveniența acestora - fecale sau culturi de laborator. Ar fi grozav, dacă ar putea fi susținut - poate printr-o pastilă zilnică?

Recent, s-a investigat dacă compoziţia microbiană a intestinului poate contribui la tulburările psihiatrice. Rezultatele au indicat că nu numai fenotipurile precum masa corporală pot fi transmise prin fecale, ci şi caracteristicile mentale precum curajul sau „comportamentul explorator" şi opusul, anxietatea. Şoarecii dintr-o tulpină (tip NIH-Swiss) sunt îndrăzneţi, iar cei din altă tulpină (BALB/c) sunt mai timizi. Aceştia pot fi influenţaţi de microbiomul lor şi de biochimia creierului lor, deoarece cele două comunică prin axa intestin-creier. Şoarecii au fost trataţi prin schimb de fecale - şi caracterele lor s-au schimbat! Şoarecii curajoşi au devenit anxioşi, şi invers, şoarecii anxioşi şi-au sporit comportamentul explorator. Testul se bazează pe o bară orizontală pe un băţ, ca o spânzurătoare în Evul Mediu. Doar şoarecii curajoşi au îndrăznit să se deplaseze orizontal până la vârf, întorcându-se apoi pentru a se întoarce. Ceilalţi au rămas la bază. Simultan, au fost analizaţi unii neurotransmiţători. Comportamentul explorator a fost corelat cu o expresie mai mare a BDNF (factor neurotrofic derivat din creier). Astfel, dibioza intestinală (microbi greşiţi) poate contribui la tulburările psihiatrice la pacienţii cu tulburări intestinale. Autorii au exclus inflamaţia ca o cauză. Ei speculează că pacienţii cu boală inflamatorie intestinală (IBD) şi compoziţie bacteriană instabilă şi

boli psihiatrice ar putea beneficia de probioticul *Bifidobacteria*, care ar putea normaliza atât microbiomul, cât şi comportamentul. Astfel, „senzaţia intestinală” provine într-adevăr din intestinul nostru şi nu din creier! Astfel de consecinţe mentale ale compoziţiei microbiotei sunt destul de greu de crezut. Recent, am avut o infecţie cu norovirus, cu diaree severă, vărsături şi pierdere de lichide. Am crezut că electroliţii şi mineralele din gospodăria mea erau dezechilibrate, precum şi microbiomul meu - dar creierul meu? Da, îmi pierdusem şi toate interesele „exploratorii”! Mi-a luat ceva timp să-mi revin! Aşa că m-am dus la farmacia Institutului Pasteur din Paris să cer *Bifidobacteria* - fără nici cel mai mic succes, nici vorbă, dar asta va veni curând, presupun! (Bioflorin este administrat la Zurich pacienţilor pentru a normaliza ecosistemul intestinelor lor). Un alt nou rezultat a corelat autismul cu microbiota, dar acest lucru nu a fost confirmat în mod consecvent.

În general, pentru a rămâne sănătos sau subţire, sau pentru a fi curajos sau lipsit de tulburări psihice - toate acestea necesită hrana potrivită - dar care este hrana potrivită? Se pare că acest lucru depinde de obiceiurile locale şi familiale, de factorii de mediu, de metabolismul personal şi de vârstă, astfel încât nu se pot face predicţii cu privire la care ar putea fi alimentul „potrivit”, cea mai bună microbiotă - pur şi simplu nu ştim în general. Ce înseamnă „mâncare sănătoasă” - este mâncarea japoneză sănătoasă pentru japonezi, dar nu şi pentru europeni? „Sănătos” pare să fie adesea alimentul pe care îl cunoaştem din copilărie, ceea ce indică o anumită co-evoluţie între microbiom şi alimente. În timpul unei conferinţe pe tema „Nutriţie”, ca parte a seriei de întâlniri „Viitorul ştiinţei” - care a avut loc într-una dintre cele mai frumoase locaţii de pe pământ, Palazzo Cini de pe insula veneţiană St. Giorgio, într-o mănăstire proiectată de marele arhitect Andrea Palladio - am aflat că dieta italiană sau mediteraneană este una dintre cele mai sănătoase. Acesta a fost rezultatul unui studiu de nutriţie „Athena” descris de Katja Petroni din Milano. De asemenea, aceasta fusese descrisă cu ani în urmă ca fiind cea mai puţin cancerigenă dietă: **paste, roşii, struguri, brânză, măsline, vin roşu** - dar astăzi tinerii italieni preferă fast-food-ul şi iau în greutate. Avem nevoie de o nutriţie personalizată acum sau vom avea nevoie de ea cândva în viitor? Un experiment din Munchen a fost anunţat public: oamenii se puteau înregistra şi îşi puteau analiza compoziţia alimentară. În scurt timp, mii de voluntari s-au înscris. Oamenii vor să ştie ce este bun pentru ei! Şi nimeni nu ştie cu adevărat încă. „Să rămâi slab” ca o garanţie a unei vieţi lungi? Sună ca un obiectiv sigur - dar, foarte surprinzător, şi opusul pare să fie adevărat: studiile cu viermii *C. elegans*, care sunt adesea folosiţi ca organisme model pentru îmbătrânire, au prezentat o durată de viaţă mai lungă dacă erau supraalimentaţi, un rezultat care s-ar putea rezuma la „grasul trăieşte mai mult”. Un prieten a sugerat: „supravieţuirea celor mai graşi”, ceea ce este un pic prea drastic! Într-adevăr, experimentul privind longevitatea viermilor a indicat că o masă corporală mai mare le poate prelungi durata de viaţă! Acest lucru trebuie să fie greşit- s-a gândit toată lumea. Poate că explicaţia este că nu este permis orice fel de grăsime, nu grăsimea animală, ci grăsimile din porumb, plante, măsline (acizii graşi nesaturaţi), chiar dacă acestea cresc masa corporală. Fără şuncă la micul dejun, aşa cum am învăţat cu toţii; uleiul de măsline pe o salată nu este, de asemenea, o noutate - astfel încât mesajul nu este complet surprinzător. Cu toate acestea, totuşi, „grăsimea împotriva îmbătrânirii” - şi nu numai consumul de legume cu antioxidanţi - merită amintit.

Obiceiurile şi idealurile se pot schimba. Există obiceiuri alimentare tradiţionale şi idealuri de frumuseţe. „Grăsimea este frumoasă” a fost declaraţia unui coleg despre femeile din Senegal. Acolo, greutatea corporală, în special a femeilor, reflectă un statut social superior. În urmă cu o sută de ani, pielea palidă era considerată frumoasă în Germania, reflectând prosperitatea şi, de asemenea, statutul social, spre deosebire de persoanele din clasa muncitoare care se bronzau. Soţiile liderilor triburilor locale africane sunt adesea recunoscute după masa lor corporală la reuniunile privind bolile africane; am observat acest lucru în timpul congreselor internaţionale privind HIV/SIDA. O conferinţă din Dubai despre virusurile hepatitei C şi cancer a condus la concluzia: „avem nevoie de ajutor cu diabetul”. Rolul tradiţional nu le permite femeilor să lucreze; le-am văzut în cel mai mare centru comercial din lume, ocupate să mănânce ciocolată. Aşadar, schimbările politice care eliberează femeile ar putea reduce obezitatea. După ce femeile îşi încep propria viaţă profesională, indicele lor de masă corporală scade.

Un aspect neașteptat al obezității este semnalat de antibiotice. Acestea au fost utilizate pentru a crește greutatea corporală a soldaților (!), dar și a animalelor, porcilor și găinilor. Acest lucru este acum interzis de UE din cauza posibilității ca acest lucru să conducă la bacterii rezistente la antibiotice, care ar putea fi transmise altor animale sau chiar oamenilor, dar și din cauza posibilității ca acestea să influențeze greutatea corporală a consumatorului. Cu toate acestea, vacile au voie să fie tratate cu antibiotice. Poate că acestea nu ajung în laptele lor? În fermele în baterie cu 40 000 de găini, cele bolnave nu sunt în mod normal îndepărtate sau selectate pentru tratament; în schimb, întregul efectiv este hrănit cu antibiotice, care astfel pot ajunge în bucătăriile noastre. Și mai gravă este consecința terapiilor cu antibiotice la oameni, în special la tineri. Adesea, adolescenții au primit zeci de cure de antibiotice împotriva infecțiilor - iar acest lucru este discutat astăzi în mod serios ca fiind un factor important care contribuie la creșterea obezității în rândul generației tinere.

Antibioticele au fost odată exploatate și administrate oamenilor pentru a-i ajuta să ia în greutate și forță - masă corporală și mușchi - și au fost inițial binevenite în anii 1950! De atunci, în cei 60 de ani care au urmat, înălțimea medie a unui american a crescut cu un centimetru, iar greutatea cu aproximativ 20 de kilograme. În prezent, o treime dintre americani sunt clasificați ca obezi - în funcție de definiția exactă, deoarece unele persoane și-au exprimat recent dezacordul cu privire la utilizarea indicelui de masă corporală (IMC) pentru a defini slabul și obezul. În ciuda faptului că un transfer de antibiotice de la carnea animală la consumatorii acesteia nu este probabil, antibioticele în formarea animalelor au fost interzise în anii 1990 de către UE, dar și astăzi sunt adăugate în hrana a zeci de mii de găini din cuști în baterie, chiar dacă doar câteva dintre păsări sunt bolnave. În mod curios, în Europa se discută despre importul de „pui cu clor” (în cadrul acordului comercial TTIP SUA-Europa). Cea mai mare expunere la antibiotice o primim prin pastilele pe care le luăm, mai degrabă decât prin alimentele pe care le consumăm! Copiilor americani li se prescrie, în medie, aproximativ o cură de antibiotice pe an. Martin Blaser, autorul cărții *Missing Microbes* (Microbii dispăruți), arată că doar dietele hipercalorice sunt insuficiente pentru a explica „epidemia” actuală de obezitate și că antibioticele ar putea contribui la aceasta. Obezitatea este desemnată drept o epidemie! Într-adevăr, sunt implicați o mulțime de microbi, inclusiv viruși. Utilizarea antibioticelor a fost mult mai restrânsă în ultima vreme, nu numai pentru a reduce masa corporală, ci și pentru a combate rezistența multidrog. Un coleg elvețian a ajuns recent la concluzia că oamenii, în special recruții pentru armată, nu mai cresc mult în înălțime, așa cum se întâmpla de zeci de ani, ci, de acum încolo, devin mai supraponderali.

Studiul olandez privind foametea

Cine și-ar fi putut imagina că cercetătorii vor învăța o lecție complet nouă despre genetică de la refugiații evrei care au plecat în Olanda și au suferit din cauza foametei olandeze (din noiembrie 1944 până în aprilie 1945) spre sfârșitul celui de-al Doilea Război Mondial? În special femeile însărcinate au fost afectate de lipsa hranei. Timp de șase luni, acestea au primit doar între 400 și 800 de calorii pe zi: două felii de pâine și câțiva cartofi. Femeile care erau însărcinate sufereau de foame în timpul perioadelor critice de formare a organelor embrionilor lor, la începutul gestației. Șase decenii mai târziu, urmașii lor sunt acum studiați. Aceștia prezintă o creștere surprinzătoare a bolilor cardiovasculare (de două ori incidența obișnuită), a bolilor metabolice, a diabetului, a artritei, a bolilor obstructive ale căilor respiratorii și a cancerului (de cinci ori incidența obișnuită).

Lipsa de hrană nu a influențat genetica embrionilor, dar a influențat epigenetica acestora. Factorii de mediu influențează reglarea genelor prin modificări chimice (cum ar fi metilarea), nu genele în sine. Se credea că acestea nu vor ajunge niciodată la generația următoare. Natura are un control de securitate încorporat; toate modificările epigenetice sunt eradicate din gene chiar la începutul unei noi vieți, atunci când aceasta începe prin fuziunea dintre un ovul și o spermă. Apoi, toate programele temporare sunt repuse la zero, la fel ca un program de calculator atunci când primește ordinul de a reporni. Fertilizarea ovulelor de către spermatozoizi duce în mod normal la reprogramarea și eradicarea modificărilor epigenetice, revenind la celule *stem* omnipotente. Acest

lucru este necesar deoarece, după fertilizare, o celulă omnipotentă trebuie să aibă șansa de a se dezvolta în oricare dintre cele 200 de tipuri de celule specializate care există în corpul uman. Astfel, modificările epigenetice sunt în mod normal limitate la o singură generație și nu sunt transmise următoarei generații. Aceasta este o invenție fantastică a naturii.

A fost o surpriză totală faptul că această precauție a naturii poate fi încălcată. Studiul olandez privind foametea a indicat că este posibilă o anumită transmitere a efectelor epigenetice de la mamă la generația următoare - nu în timpul fertilizării, ci mai târziu, în timpul sarcinii. Acest lucru are consecințe asupra întregii vieți viitoare a urmașilor. Nu doar o generație, ci trei generații sunt afectate: mama, embrionul (copilul) și celulele germinale ale embrionului (nepotul). Toate trei sunt expuse în același timp la factori de mediu, cum ar fi malnutriția în cazul unei femei însărcinate. Acest lucru a fost dovedit de studiul olandez privind foametea.

Un alt eveniment vine în sprijinul acestor rezultate. Stresul asupra femeilor însărcinate în timpul „Furtunii de gheață din Quebec" din Canada din 1998 a avut consecințe similare cu cele ale Foametei olandeze asupra sănătății generației următoare. Aproximativ 3 milioane de locuitori din Quebec au fost în întuneric timp de 45 de zile din cauza condițiilor meteorologice, ceea ce a constituit o situație de stres. Descendenții concepuți în acea perioadă au fost intervievați mai târziu, în adolescență, și s-a constatat că aveau un risc mai mare de astm, obezitate și diabet.

Astăzi, titlurile atrag atenția: Nu numai „mamele grase" influențează fiicele și nepoatele prin ceea ce prind în timpul sarcinii, ci și „dieta tatălui modelează cromatina copiilor", cu consecințe pe viață pentru urmașii lor. Tații ar putea avea un mecanism molecular diferit de cel al mamelor: dietele extreme pot modifica modul în care genele sunt împachetate în spermă, modelând cromatina embrionului și a copilului, afectând metabolismul viitorilor urmași pentru întreaga lor viață. Muștele sunt utilizate în prezent ca modele animale, pentru a testa ce se întâmplă în sperma masculină și în condiții de hrană extrem de abundentă sau de lipsă de hrană și pentru a vedea cum o dietă bogată în calorii ar putea influența masa corporală a generației următoare. Studiile pe muște susțin acum studiile paternale umane.

Una dintre genele care influențează obezitatea la om este factorul de creștere asemănător insulinei (IGF-2), care joacă un rol în creștere și dezvoltare. Într-adevăr, s-a demonstrat că gena sa este insuficient metilată, ceea ce duce la IGF-2 supraexprimat. Excesul de IGF-2 cauzează obezitate târzie. Autorii discută posibilitatea ca organismul să încerce să stocheze calorii cât mai eficient posibil în timpul înfometării. Cu toate acestea, odată ce există suficientă hrană, acest mecanism de stocare persistă, având ca rezultat probleme metabolice precum excesul de greutate. Acest tip de fenomen a fost discutat chiar în legătură cu neanderthalienii, strămoșii noștri care au trăit în urmă cu aproximativ 100 000 de ani și au trecut prin perioade lungi de înfometare, împotriva cărora au fost protejați de genele obezității.

La mamifere, aproximativ 1% dintre gene scapă reprogramării epigenetice (grupurile metil supraviețuiesc printr-un proces numit „*imprinting*"). Aceste modificări epigenetice pot fi transmise generației următoare. Atunci femeile supraponderale pot transmite această predispoziție nepoatelor lor, iar bunicii nepoților lor, pentru două noi generații. Nu știm cât de frecvent se întâmplă acest lucru. Oameni de știință britanici precum Marcus E. Pembrey au descoperit că înfometarea unui bunic în adolescență a schimbat rata mortalității nepoților săi, iar a unei bunici pe cea a nepoatelor sale. Modificările epigenetice chiar înainte de sarcină sau în momentul concepției pot duce la epigenetică ereditară. Chiar și fumatul unui tată poate influența generația următoare. Efectul alcoolului asupra embrionului, de care astăzi fiecare mamă însărcinată este avertizată, poate provoca, de asemenea, modificări epigenetice.

Cercetătorii olandezi continuă analiza microbiomului și a alimentației. Ei au demarat un nou studiu uriaș, monitorizând 140 de persoane timp de 10 ani cu 40 de milioane de observații, protocoale de aport alimentar, parametri de sănătate, descrieri ale scaunelor etc. Datele colectate au depășit capacitățile calculatoarelor lor, astfel că astrofizicienii au fost chemați în ajutor. Acei voluntari care beau zilnic lapte bătut au fost deja corelați cu un microbiom specific - ceea ce nu este prea surprinzător, cu excepția faptului că nimeni în afară de olandezi nu bea lapte bătut și nici măcar nu știe ce este acesta!

Alimentele, cu influența lor asupra modificării epigenetice a genelor noastre, au atras recent multă atenție și au devenit un punct central al cercetării. Unul dintre rezultate mi se pare a fi foarte important: efectul alimentației asupra modificărilor epigenetice și asupra eficienței de salt a elementelor transpozabile. Modificările epigenetice din ADN vizează elementele transpozabile și reglează frecvențele de salt ale acestora. Astfel, există o legătură de la masă la stabilitatea noastră genomică - la genele săritoare. Aceste modificări pot duce apoi la alterări genetice, stabile pentru generații. Sunt multe de învățat despre ce să facem, dacă sau cum ne putem influența genele și chiar, eventual, să le îmblânzim. Cum ar funcționa asta? Aflăm doar despre efectele negative sau care cauzează boli. Celelalte nu sunt atât de vizibile, dar sunt totuși acolo.

Sunt posibile chiar și efecte epigenetice de mai lungă durată, moștenire pentru mai mult de trei generații. Aceasta urmează un mod de acțiune diferit și are deja un nume: este definită ca moștenire „transgenerațională" prin mai multe generații. O altă denumire care descrie acest fenomen este „paramutația". Acesta a fost deja descoperit în urmă cu 65 de ani de Alex Brink din Canada, care l-a observat la porumb, cam în aceeași perioadă în care McClintock a descoperit epigenetica, în jurul anului 1950 (a se vedea cap. 7).

Fenomenul a fost demonstrat recent cu viermii *C. elegans,* care se adunau la locul unde era concentrat un hormon sexual. Acest tip de comportament a fost moștenit timp de 50 de generații. În mod neașteptat, chiar și fără semnalul hormonului sexual, atunci când mirosul a dispărut, viermii s-au adunat în același loc timp de mai multe generații. Nu a fost necesar niciun stimul exogen suplimentar. Acest experiment a fost realizat, de asemenea, cu un indiciu de dependență de alcool și etanol - viermii și-au amintit, într-adevăr, și acest indiciu timp de peste 20 de generații. Cum își amintesc viermii - și acest lucru este limitat la împerechere? Foarte surprinzător. Au ajuns informațiile în genele viermilor? Nu, din câte știm noi. Mecanismul implică o bucată scurtă de ARN, care este moștenită prin spermă. (ARN-ul se numește PIWI-interacting RNA, prescurtat piRNA, unde PIWI este foarfeca moleculară pentru procesul de reducere la tăcere a genelor). Stabilizarea prin mai multe generații este atribuită unor modificări de lungă durată în cromatină.

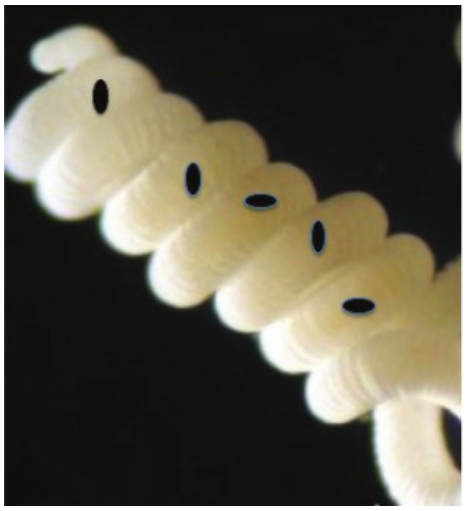
Calea de la obezitate la moștenirea de lungă durată, de la ARN de reglementare la piARN în celulele germinale ca factor transmisibil - acesta va fi un nou domeniu de cercetare. Ce fel de perspective de viitor deschid toate acestea? Bunicii își influențează nepoții și strănepoții? Poate - dar numai în ceea ce privește masa corporală sau comportamentul de împerechere? (A se vedea cap. 12.)

Am un stră-străbunic al cărui teatru de operă a devenit destul de cunoscut (arhitectul Gottfried Semper), dar nu cred, din păcate, că mi-a transmis mie vreuna sau cel puțin o cantitate notabilă din experiența sa epigenetică sau paragenetică - sau geniul său! Poate doar urmașilor de sex masculin? Mă tem că da! M-ar fi scutit de o mulțime de probleme, dacă aș fi moștenit experiența lui epigenetică sau parageneticăpentru a mă ajuta să mă descurc cu unii dintre colegii mei elvețieni, pe care o experimentase și el, construind ETH - asta mi-ar fi putut schimba viața!

Viermii Elba externalizează digestia

Nu m-am așteptat niciodată să dau peste ceva atât de ciudat precum viermele Elba. Intestinele sale sunt întoarse pe dos. Scafandrii au colectat viermele Elba *Olavius algarvensis,* sau *O. algarvensis,* în apele puțin adânci din largul insulei Elba. Este alb, ceea ce în mod normal corespunde unui habitat în adâncurile mării. Cu toate acestea, trăiește aproape de suprafață. Nu are gură sau alte deschideri; nu are tract digestiv, nu are organe de secreție, nu are organe deloc. Este într-adevăr un vierme, doar pentru că arată ca unul? Are organele genitale înconjurate de câteva fire de păr puternice și se poate reproduce. Trăiește în strânsă simbioză cu bacteriile. Structura asemănătoare unui intestin este populată la exterior de microorganisme, care ajută la digestia sa. Acestea cuprind cel puțin cinci tipuri diferite de bacterii, o echipă de ajutoare, care garantează aprovizionarea cu hrană, reciclarea resturilor și eliminarea deșeurilor. Cel mai surprinzător este faptul că simbioza dintre vierme și bacterii metabolizează monoxidul de carbon și hidrogenul sulfit, ambii compuși toxici. Întregul complex se mișcă în sus și în jos, activând bacterii care

metabolizează oxigenul acolo unde apa este puțin adâncă și bacterii care metabolizează sulful acolo unde este adâncă. Una produce zahăr, iar cealaltă îl transformă înapoi. Viermele este un vehicul de transport condus de bacteria pasageră. Pur și simplu plutește în sus și în jos.



Viermele Elba cu bacterii
Viermele Elba este populat din exterior cu bacterii care ajută la digestie - exact opusul intestinelor noastre, unde interiorul și exteriorul sunt inversate.

Și noi suntem colonizați de bacterii, dar invers: majoritatea se află în intestinul nostru, dar ne ajută și la digestia alimentelor, cum ar fi vitaminele, ne hrănesc și îndeplinesc funcții esențiale, cum ar fi protecția împotriva microorganismelor străine. Pielea noastră este, de asemenea, populată de bacterii, dar acestea nu ne hrănesc cu adevărat. Simbioza viermelui Elba cu bacteriile este atât de strânsă încât nu pot fi separate fizic. Prin urmare, întregul sistem a fost secvențiat. Au fost surprinzător de multe gene săritoare, transpozoni, de asemenea transpozază cu mecanismul „taie și lipește”. Este posibil ca această simbioză multiplă să fie destul de recentă și să existe încă încercări și erori semnificative. Genomul se adaptează la noile condiții de viață. Genele saltătoare pot fi periculoase dacă apar prea multe mutații, dar în timpul adaptării acest lucru este util. Aceasta este adaptarea în timp real - după cum sugerează Nicole Dubilier de la Institutul de Microbiologie Marină din Bremen. Poate fi această comunitate un model pentru alte comunități cooperative, chiar și pentru societatea umană? Această întrebare este ridicată de autori. Care sunt caracteristicile sau analogiile sale? Poate împărțirea muncii, situațiile în care toți câștigă, mutualismul, simbioza, cooperarea, interacțiunile, dependențele, subcontractele, externalizarea, interacțiunile, fără război, fără stres, fără lupte, fără animozități? Toate acestea sunt la fel de adevărate și în afara viermelui Elba și în intestinul nostru. Este acesta un model pentru interacțiunea dintre oameni?

Meduzele folosesc interacțiuni similare: o simbioză a meduzelor ca vehicule de transport pentru alge, nu pentru bacterii. Există un lac de meduze în Palau, în Filipine, cu milioane de jeleuri aurii într-o simbioză cu algele, care constituie până la zece procente din greutatea meduzelor. Algele plus razele soarelui duc la oxigen și zahăr, hrană pentru meduze. Meduzele transportă algele pentru producția de hrană. Meduzele uriașe se învârt în jurul lor ca roiuri și îi atrag pe cercetători să studieze acest sistem biologic unic, ca un stadiu incipient al vieții cu puțin oxigen. Am menționat deja că nu numai meduzele, ci și virușii și bureții sunt sensibili la lumină și își conduc gazdele spre soare. Sunt frecvente astfel de sisteme simbiotice multiple? Viermi de Elba, meduze, bureți - ecosisteme ca noi?

Ecosfera într-o sferă de sticlă

Am câțiva mici colegi de casă, patru crabi mici și plini de viață care locuiesc într-o sferă de sticlă (îmi amintesc de copilăria mea și de crabul „ERNA” pe care l-am avut cândva în Busum, la Marea Nordului, unde am crescut cu multă mâncare de crabi). Mingea îmi încape în mână - o lume

întreagă, autosuficientă, complet închisă, fără nicio deschidere pentru hrană, apă proaspătă sau aer din exterior. Înăuntru există apă, precum şi nişte pietricele albe, care formează solul. Câteva ramuri din plastic negru simulează plantele de pe fundul mării. În această sferă de sticlă închisă există viaţă. Acesta este un acvariu, dar este autonom şi nu are nevoie de curăţare sau hrănire regulată. Cu toate acestea, are nevoie de soare. Aceasta necesită un dozaj expert: nici prea multă lumină, nici prea puţină. Dacă există prea multă lumină, algele verzi încep să acopere interiorul peretelui de sticlă. Pentru această problemă este furnizat un magnet mic, cu un magnet omolog pe interior, pentru a îndepărta înmulţirea algelor. Globul de sticlă are un efect de lentilă şi măreşte crabii. Primul meu gest atunci când ajung acasă este să întâmpin aceste animăluţe drăguţe - şi asta se întâmplă de mai mulţi ani.

Aceasta este o „ecosferă”, aşa cum a fost dezvoltată de Agenţia Americană pentru Aer şi Spaţiu, NASA, acum douăzeci de ani. Trebuia să fie pusă pe orbită, ceea ce s-ar putea să se fi întâmplat, nu ştiu. Pe internet, acest lucru este catalogat drept cruzime. Totuşi, dacă crabii înoată în cerc, s-ar putea să nu-şi dea seama că sunt închişi. În această minge enigmatică, pe lângă alge şi crabi, trebuie să fie prezente şi alte lucruri; trebuie să existe bacterii, pe care nu le putem vedea, şi, desigur, viruşi, pe care avem şi mai puţine şanse să îi vedem.

Lumina stimulează metabolismul algelor, crabii se hrănesc cu alge şi bacterii, iar bacteriile digeră resturile crabilor, care produc din nou nutrienţi; crabii şi bacteriile produc dioxid de carbon, de care algele au nevoie pentru a produce oxigen. Totul este clar? Ce echilibru bine echilibrat este acesta! Prea multe alge nu pot fi digerate de crabi, iar dacă nu există suficiente alge, crabii vor muri de foame. Într-o zi, unul dintre crabi a dispărut. A murit de foame, sau din lipsă de lumină? Orice s-ar fi întâmplat, cu siguranţă a fost descompus în molecule, care au reintrat în ciclul metabolic. Aceasta este moartea - un lanţ trofic.

Pretutindeni pe Pământ, acest tip de ciclu echilibrat între resurse şi deşeuri este esenţial. Un copil îmbrăcat sărăcăcios pe un munte de gunoaie din una dintre ţările în curs de dezvoltare face cu mâna unui aparat de fotografiat cu un card Visa din plastic pe care scrie numele doamnei Müller din Wanne-Eickel, la mii de kilometri distanţă! Ce fel de eliminare a deşeurilor este asta? Sau: stratul de petrol deversat de Deepwater Horizon în largul coastei Floridei în 2010 a surprins oamenii de ştiinţă datorită vitezei cu care bacteriile au lizat deversarea. Din nou, bacteriile cresc atâta timp cât există hrană şi dispar după ce au terminat curăţarea, un efect autolimitant. Cu toate acestea, aglomerările de petrol s-au scufundat - ce vor face ele? Natura şi-a revenit cu o viteză neaşteptată - cel puţin la suprafaţa oceanului. Acesta a fost şi cazul după incidentul reactorului de la Cernobîl şi după erupţia vulcanică a Muntelui St. Helens din SUA. Se pare că un ecosistem sănătos poate supravieţui dezastrelor şi o poate lua de la capăt.

Întrebarea referitoare la viruşii din ecosistemul cu bilă de sticlă necesită, de asemenea, un răspuns. Cu siguranţă există viruşi. NASA nu i-a menţionat - pentru că nimeni nu ştie despre ei. Aceştia se află, de asemenea, în interiorul bacteriilor care metabolizează uleiul, sub formă de fagi, şi, de asemenea, în interiorul crabilor mei, în maţele lor şi pe exteriorul lor. Acest lucru este cunoscut. Cu toate acestea, ele nu provoacă nicio boală atâta timp cât totul este bine echilibrat. Prin urmare, nu ştim nimic despre ele. Apropo, ecosfera poate fi comandată pe internet.

NASA trimite pe Marte tardigradul (Acutuncus antarcticus), un mic animal care se deplasează lent, asemănător unui gândac, cu faţa încreţită. Este posibil ca mulţi oameni să nu fi auzit de el, aşa cum nici eu nu am auzit până când nu am vizitat fostul meu Institut de Fizică Extraterestră (fostul Institut de Fizică Nucleară Pură şi Aplicată), unde acum 50 de ani mi-am scris teza de diplomă despre razele cosmice. După cel de-al Doilea Război Mondial, acolo au fost analizate ploile de aer cu particule elementare după ce au trecut printr-un strat de beton de şapte metri grosime al unui buncăr echivalent cu o a doua atmosferă, pentru a încetini şi a prinde particulele primare cu energie mai mare. Acum *tardigradul* va decola de acolo şi va zbura pe orbită. A avut o înviere spectaculoasă. Nişte muşchi din Arctica au fost îngheţaţi la -20°C într-un congelator din Japonia acum 30 de ani, în 1983, iar când au fost recent dezgheţaţi în scopuri de cercetare, doi dintre aceşti gândaci s-au târât afară, unul dintre ei a supravieţuit şi a depus ouă. Aceste creaturi minuscule pot supravieţui îngheţului, dezgheţului, căldurii şi radioactivităţii şi pot

deveni foarte bătrâne. Au o genă *Methuselah*. Ele servesc drept model pentru supraviețuirea pe orbită. Se târăsc și pe Pământ, la Cernobîl sau pe vulcanul Mount St. Helens? Cu siguranță sunt un model de supraviețuire foarte diferit de cel din globul de sticlă cu crabi. Au, de asemenea, LINE și SINE în genomul lor, sau viruși adevărați? Cu siguranță.

Unele experimente nici măcar nu au fost planificate, ci au avut loc din întâmplare: spori care se aflau întâmplător într-o cutie din polistiren expandat au fost trimişi pe Lună şi înapoi - şi s-au întors vii. Eu aș trimite pe orbită semințe de arbore **ginkgo**, pentru că acestea au supraviețuit bombei atomice din Japonia la doar câțiva kilometri distanță de detonare. Și ce spuneți de viroizi în eprubetă, bucăți de ARN, probabil primele biomolecule? Acestea ar fi pasagerii mei clandestini preferați și poate că se vor întoarce și ei intacți - sau vor da naștere unui nou tip de viață în altă parte.

11. Viruși pentru terapia genică

Viruși împotriva virușilor

Principiul terapiei genice este foarte simplu: Natura ne-a furnizat viruşi care pot purta oncogene, iar virusologii înlocuiesc oncogenele cu gene terapeutice, astfel încât viruşii oncogeni provoacă boli, iar viruşii terapeutici vindecă. Terapia genică urmează principiul tuturor virușilor: transferul de gene. Acesta este rolul principal al virușilor în cursul evoluției.

Virușii reușesc atât de bine să provoace boli pentru că se înmulțesc într-un număr astronomic în interiorul unui organism - și aici apare problema: virușilor terapeutici nu li se permite să se înmulțească. Prin urmare, au un succes mult mai mic. Aceasta este o restricție creată de om, deoarece virușii care se reproduc ar putea fi periculoși. Ar putea intra în celulele germinale și ar putea fi transmise generațiilor viitoare. Nu îndrăznim să manipulăm genele urmașilor noștri - nimeni nu dorește ca acest lucru să se întâmple. Este destul de dificil să concepem viruși care nu se pot replica în orice condiții posibile, deoarece virușii „învață" foarte repede, iar unii pot „scăpa". Virușii trebuie să fie siguri. Majoritatea cazurilor de terapie genică au fost realizate cu retrovirusuri, dar mulți alți viruși sau viruși sintetici pot fi modificați în acest scop. Virusurile de terapie genică sunt „virusuri de design" complicate.

Infectarea unei celule normale cu un virus tumoral transformă o celulă într-o celulă tumorală, iar inversul este de asemenea posibil: o celulă tumorală poate fi tratată cu un virus care poartă gene terapeutice, pentru a „vindeca" celula, făcând-o din nou normală. Gena terapeutică trebuie să fie capabilă să compenseze mutația care a cauzat fenotipul malign al celulei tumorale. Alte boli genetice sau metabolice pot fi, de asemenea, reparate prin terapie genică. Dificultatea constă în găsirea genei potrivite și a celui mai bun virus. Fiecare virus are avantajele și dezavantajele sale. Retrovirusurile sunt încă cele care au fost studiate cel mai amănunțit ca potențiali viruși terapeutici. În special în laboratoare, acestea sunt de neînlocuit pentru transferul genelor în celule. Nu există laborator de biologie moleculară în lume în care vectorii retrovirali să nu fie instrumente uzuale pentru transferul de gene. De fapt, acest lucru nu este chiar adevărat, deoarece este necesar nivelul de biosecuritate de laborator BL2. Am avut o cameră prețioasă de acest fel și, prin urmare, am contribuit la sinteza unei mari varietăți de viruși diferiți pentru colegi. Retrovirusurile se integrează în genomul gazdei. Acest lucru a fost considerat a fi un avantaj important, deoarece se aștepta o eficacitate de lungă durată. Cu toate acestea, ea nu este întotdeauna de lungă durată și poate fi, de asemenea, periculoasă, deoarece integrarea în genom este adesea un eveniment genotoxic, cauzând leziuni locale ale ADN-ului, care ar putea apoi induce cancer ca o consecință târzie a unei astfel de terapii. Astfel, tratamentul cancerului poate provoca noi cancere. Chiar și așa, poate că pacientul poate câștiga timp sau o sănătate mai bună prin terapie.

În mod neașteptat, studiile pe animale cu retrovirusuri au indicat că expresia genelor terapeutice nu a fost întotdeauna de lungă durată, ci a dispărut cu timpul, în ciuda integrării. Acest lucru se datorează unei contrareacții a organismului la o genă străină, care duce la închidere. Fenomenul este efectul de *silențiere*, prin care genele „străine" sunt inactivate de o apărare antivirală. Apărarea duce la modificări epigenetice pentru inactivarea genelor, așa cum este descris pentru genele de culoare ale porumbului sau ale șoarecilor. (Aceasta implică metilarea secvențelor de ADN sau alte proceduri pentru inactivarea genelor). Acest mecanism de *silențiere* este aparent mai proeminent la adulți, deoarece o terapie genică retrovirală la copii împotriva granulomatozei (o boală a vaselor de sânge) a vindecat doi copii, în timp ce un adult a murit după doi ani. Aceste studii sunt efectuate cu foarte puțini pacienți și statisticile nu sunt satisfăcătoare. Dar este posibil ca efectul terapeutic să fie mai durabil la copii decât la adulți.

Există alternative: în loc să înlocuiască genele bolnave, terapia genică poate fi realizată prin stimularea sistemului imunitar al pacientului, pentru a-l ajuta să lupte împotriva tumorii sale, pentru a „ajuta oamenii să se ajute singuri”. Terapiile imunitare pot cuprinde gene pentru citokine, care conduc la un efect sistemic - nu doar local. Noi am folosit un astfel de factor, gena interleukinei-12 (numită şi factor de stimulare a celulelor T), care activează celulele ucigaşe şi creşte nivelul unor tipuri de interferon - o întreagă baterie de componente pentru lupta împotriva cancerului.

Cea mai importantă restricție privind utilizarea virușilor este că nu li se permite să se reproducă. Niciun virus nu are voie să treacă de la o celulă la alta.

Fiecare celulă este o stradă fără ieşire pentru virusul terapeutic: intrarea este permisă, dar ieşirea nu este permisă. Virusul ar trebui să pătrundă în celulele somatice - în special în celulele canceroase sau bolnave - şi să le ucidă sau să le vindece, dar nu ar trebui niciodată să fie eliberat în fluxul sanguin, de unde ar putea, printr-un accident, să găsească o celulă germinală şi să fie transmis generației următoare. Şansa de a ajunge la o celulă germinală creşte dacă virusul se replică în număr mare. Acest lucru a fost strict interzis, inițial printr-o auto-restricție a cercetătorilor. Astăzi există reguli stricte stabilite de autoritățile legale. Fără replicare, fiecare celulă tumorală trebuie să fie lovită de un singur virus terapeutic. Acest lucru este dificil. O tumoare de mărimea unui **cm** cub (un mililitru sau aproximativ un gram) conține aproximativ 10^9 celule. Prin urmare, pentru a trata o astfel de tumoare ar fi nevoie de cel puțin 10^9 virusuri, dacă fiecare virus găseşte o celulă. Cu toate acestea, doar o sutime sau o miime din această cantitate (20 de milioane de virusuri într-un mililitru) poate fi produsă. Astfel, volumul este prea mare, iar virușii nu ajung la toate celulele tumorale. Acest lucru explică deja limitele terapiei genice cu ajutorul vectorilor virali: virușii trebuie să se reproducă pentru a fi eficienți. Acesta este exact motivul pentru care natura le-a dezvoltat. În plus, nu este niciodată posibil să se ajungă la fiecare celulă, întotdeauna rămâne o „boală reziduală minimă”. Chiar dacă doar câteva celule scapă, acestea vor fi adesea suficient de numeroase pentru a creşte din nou, astfel încât tumoarea va reveni.

Pentru a evita producerea de viruși capabili de replicare, virușii sunt adesea tăiați în bucăți, genele lor sunt fragmentate în trei până la patru bucăți genetice sub-virale în loc de una şi apoi împachetate într-o particulă de virus. Bucățile constau în plasmide ADN, iar fiecare dintre ele poate codifica doar un subset de gene. Lentivirusurile au fost construite pentru a înlocui retrovirusurile mai simple. Acestea sunt rude ale HIV. Acest lucru pare înspăimântător la prima vedere - nu numai pentru cititor, ci şi pentru autoritățile de reglementare. Lentivirusurile prezintă avantaje deoarece sunt active în celulele care nu se divid (cum ar fi celulele neuronale). Ele pot fi făcute sigure. O modalitate de a garanta acest lucru este ştergerea anumitor gene virale sau fragmentarea şi găsirea unor modalități inteligente de a le împiedica să se reformeze pentru a obține un virus infecțios şi complet. Acestea pot fi reunite în mod tranzitoriu şi utilizate pentru infectarea tumorilor, fiecare particulă afectând o singură celulă. Sistemul a fost dezvoltat de laureatul premiului Nobel David Baltimore de la Institutul de Tehnologie din California, Pasadena, California.

Într-o zi, un student de vară din Berlin m-a surprins în Zurich cu virusul „Baltimore”. I-a scris pur şi simplu o scrisoare lui David din SUA în care îi cerea virusul terapeutic şi apoi l-a purtat în rucsac fără nicio grijă. Am fost şocat! Am încuiat-o într-un compartiment de siguranță, aşa cum era necesar. Cel mai probabil, antetul scrisorii cu numele meu pe el fusese biletul lui gratuit!

O altă dificultate pentru terapia genică este modul în care virusul terapeutic poate găsi celula tumorală în organism. Se poate încerca să se utilizeze un ac hipodermic şi să se injecteze o suspensie direct în tumoare sau în jurul acesteia. Acest lucru funcționează doar cu unele tumori. Am injectat melanom malign, care formează tumori locale ale pielii, cu plasmide ADN terapeutice. Efectele secundare pentru pacient sunt mai mici, iar o doză locală este mai mare decât o doză sistemică, care ar inunda întregul organism. Acest lucru este, însă, inutil împotriva metastazelor generalizate, care migrează în locuri îndepărtate. Se poate încerca direcționarea unui virus chiar şi către o tumoră sau o celulă metastatică îndepărtată, prin utilizarea unor markeri de suprafață, un fel de adresă moleculară. Acesta este, din nou, un principiu identic cu cel dezvoltat de natură pentru a direcționa un virus către celula țintă corespunzătoare. HIV îşi găseşte celula țintă recunoscând

receptorul de pe suprafața limfocitelor prin intermediul glicoproteinei de suprafață virală **gpl20**, un ligand al receptorului, un bilet de intrare foarte limitat pentru virus.

Au fost dezvoltate alternative. Una dintre ele constă în izolarea celulelor tumorale, tratarea lor în afara organismului, producerea în laborator a mai multor celule tratate sau vindecate şi reinfuzarea lor în organismul pacientului. Această metodă „*ex vivo*" este mai sigură şi mai eficientă decât terapia „*in vivo*".

Integrarea unui retrovirus reprezintă întotdeauna un pericol, deoarece locurile de integrare sunt aleatorii, iar modificarea lor poate afecta sau deteriora genele celulare. Acest fenomen se numeşte „mutageneză inserţională" sau „inserţie de promotor", referindu-se la promotorul viral puternic, şi poate provoca cancer. Prin urmare, leacurile pot provoca cancer. Acesta a fost într-adevăr cazul unor copii imunodeficienţi. Alain Fischer, din Paris, a tratat 18 copii cu un vector retroviral, care exprima un factor de creştere pentru terapia împotriva imunodeficienţei ereditare „ADA"; această deficienţă îi făcuse atât de sensibili la infecţii încât erau nevoiţi să trăiască în corturi sterile. Terapia genică a vindecat 16 dintre ei, dar a condus la o mutagenie inserţională periculoasă la doi dintre ei, prin care promotorul viral a indus leucemie la copii (din fericire, acest lucru a putut fi controlat). Astfel, terapia genică *ex vivo* poate fi, de asemenea, riscantă.

Un alt pas înainte este reprezentat de conceperea vectorilor retrovirali inductibili. În acest fel, se poate influenţa activitatea virusului şi chiar controla doza de produse genetice terapeutice. Acest lucru poate reduce toxicitatea sau alte efecte secundare. Unii viruşi recombinanţi se pot autodistruge printr-un proces numit „SIN" (autoinactivare), odată ce şi-au îndeplinit scopul.

Există, de asemenea, gene inductibile de interferon, pe care un coleg de-al meu, Jovan Pavlovic (un student al lui Jean Lindenmann, descoperitorul interferonului) le-a dezvoltat la Institutul de Virusologie Medicală din Zurich. Acesta a devenit un punct central al cercetărilor intense ale Fundaţiei Volkswagen pentru şoareci transgenici inductibili. La aceşti şoareci se pot activa şi dezactiva gene prin interferon. Este nevoie de aproximativ trei ani pentru a reproduce astfel de şoareci, iar aceste proiecte nu erau foarte atractive pentru colaboratori. Între timp, a fost dezvoltată noua şi foarte eficientă metodă CRISPR/Cas9. Acum, producerea unor astfel de şoareci este doar o chestiune de câteva săptămâni.

Înţelegerea mecanismelor de formare a tumorilor este încă un proiect de cercetare, în special în cazul şoarecilor transgenici. O întrebare încă deschisă este aceea a modului în care proteinele oncogene **Ras** şi **Myc** cooperează pentru a induce o tumoare - încă fără răspuns în 2015, chiar dacă aceste două oncogene în tandem sunt cunoscute ca fiind cauze puternice ale cancerului de peste trei decenii. Acest lucru este foarte surprinzător. Aceste două oncogene puternice nu formează uşor tumori la şoareci - şi nimeni nu ştie de ce nu. Ce alţi factori lipsesc? Acest lucru pune sub semnul întrebării utilizarea şoarecilor ca modele tumorale.

În plus faţă de retrovirusuri, adenovirusurile sunt, de asemenea, dezvoltate ca terapie genică. Acestea au avantajul că pot infecta multe tipuri diferite de celule gazdă şi nu se integrează, astfel încât nu apar efecte secundare genotoxice. De asemenea, pot creşte la un număr mai mare, de exemplu 10^{11} virusuri pe mililitru, pentru o eficacitate terapeutică mai bună. În Philadelphia, în 1999, la începutul erei terapiei genice, un pacient tânăr care nu era bolnav în fază terminală a fost tratat prin terapie genică cu adenovirus. Medicii i-au administrat până la 10^{15} particule de virus, în speranţa că, cu cât va primi mai multe, cu atât rezultatul va fi mai bun. S-a întâmplat contrariul: băiatul, Jesse Gelsinger, a murit din cauza unei reacţii exagerate a sistemului său imunitar, numită „furtună de citokine", deoarece el poseda deja anticorpi împotriva virusului terapeutic. Un şoc a străbătut, de asemenea, întregul domeniu al terapiei genice, iar cercetătorul principal a fost eliberat din funcţie. Lecţia învăţată a fost că pacienţii trebuie să fie naivi, fără anticorpi, pentru virusurile terapeutice.

Majoritatea oamenilor s-au confruntat cu infecţii cu adenovirus inofensive de-a lungul vieţii şi sunt purtători de anticorpi precum cei care au interferat cu această terapie. Prin urmare, în prezent se administrează adenovirusuri care nu sunt de origine umană, ci mai degrabă de la primate, deoarece majoritatea oamenilor nu s-au confruntat niciodată cu acestea. Recent, a fost utilizat virusul adeno-asociat (AAV). Acesta a fost selectat datorită capacităţii sale de a se integra foarte

specific într-un singur loc din cromozomul 19, astfel încât integrarea nespecifică, cu toate riscurile pe care le implică, să fie evitată. Din păcate, vectorul de terapie genică AAV a pierdut adesea exact acest avantaj, dar este dezvoltat în continuare ca unul dintre vectorii promițători.

Cei mai noi avangardiști în cercetarea cancerului sunt *virușii oncolitici*, care infectează, se replică și lizează numai celulele tumorale (după cum indică și numele lor). Celulele normale nu permit replicarea și rămân sănătoase. În plus, celulele tumorale ucise eliberează cantități mari de viruși. Prin urmare, această abordare depășește problema, menționată mai sus, care este inerentă virușilor cu defecte de replicare. *Virusurile oncolitice* pot fi injectate și își vor găsi drumul către celulele tumorale sau metastatice din întregul organism. În plus, virusul în sine este un stimulent pentru sistemul imunitar, ca o terapie imunitară suplimentară. Domeniul „viroterapiei" a fost cunoscut de mult timp din vindecări sporadice, în care infecții virale nespecifice sau vaccinuri au arătat îmbunătățiri în boli fără legătură. Această terapie nu a fost înțeleasă și a fost odată abandonată, dar acum revine ca o componentă a terapiei cu *viruși oncolitici*.

Utilizarea *virușilor oncolitici* împotriva celulelor canceroase este o abordare foarte elegantă și este studiată în multe laboratoare. Frank McCormick a dezvoltat-o în urmă cu aproximativ 20 de ani cu compania sa Onyx, folosind adenovirusuri modificate genetic care se replică și lizează numai celulele tumorale, chiar dacă infectează și celulele normale, dar acolo nu se pot replica, ceea ce ar face în mod normal. Trucul molecular constă în faptul că virusul terapeutic este sensibil la supresorii tumorali din celulele normale, care sunt oricum absenți în celulele tumorale.

Între timp, aproximativ 20 de studii clinice sunt în curs de desfășurare, chiar și în cazuri relativ fără speranță, cum ar fi tumorile pancreatice și cerebrale. Un medicament împotriva cancerului de cap și gât a fost aprobat în China în urmă cu câțiva ani. Medicamentele împotriva melanomului malign sunt, de asemenea, aproape de a obține aprobarea în 2016. De asemenea, la Centrul german de cercetare a cancerului din Heidelberg, această abordare este în curs de dezvoltare cu virusuri rujeolice. Pot fi utilizate și alte virusuri, cum ar fi parvovirusurile, poliovirusurile sau virusurile herpetice modificate - care sunt oricum *virusuri oncolitice*. Să sperăm, să așteptăm și să vedem.

Compania biofarmaceutică Amgen s-a îmbogățit din vânzarea *eritropoietinei*, care induce replicarea globulelor roșii și care, pe lângă utilizările sale legitime, este adesea folosită în mod abuziv pentru dopaj în sport. Amgen a cumpărat Onyx pentru mai multe miliarde de dolari și este acum prima companie care a obținut aprobarea pentru *virușii oncolitici*.

Onyx are, de asemenea, în portofoliu inhibitori de kinază Raf împotriva carcinomului de colon. Foarte recent, a primit o subvenție substanțială pentru a dezvolta inhibitori ai oncogenei **Ras** - un efort în care nimeni nu a reușit încă, în ciuda cheltuielilor enorme pentru cercetare și a deceniilor de eforturi depuse de multe companii farmaceutice. **Ras** mutant este unul dintre oncogenele cele mai frecvente în cancer, dar are atât de multe ținte în aval încât fiecare tratament care îl implică a provocat până acum efecte secundare. Vor fi necesare combinații de terapii diferite: terapii duble sau triple.

„Big Pharma cumpără Small Biotech". Aceasta a devenit noua strategie. Este bine pentru companiile mici, care nu pot dezvolta medicamente pentru aplicații clinice și nu pot îndeplini toate cerințele de reglementare, cu costuri care se ridică la un miliard de dolari. Astfel, Small Biotech preferă să fie înghițită de Big Pharma, ca o strategie profitabilă de ieșire rapidă. Companiile mici sunt mai inovatoare, mai flexibile, mai dispuse și mai capabile să își asume riscuri, să piardă sau să câștige - în timp ce companiile mari s-au transformat cumva în instituții de investiții care nu mai efectuează prea multe cercetări, poate doar suficient pentru a urmări noile evoluții de pe piață, pentru a lua decizii educate cu privire la ce să preia!

Frank McCormick a avut succes de mai multe ori. El a fost principalul vorbitor la prima reuniune pe teme de biotehnologie pe care am organizat-o la Universitatea din Zurich, în 1999, despre care aflasem ca angajat cu jumătate de normă la o companie americană de biotehnologie în timpul fostului meu post de cercetare la Institutul Max Planck din Berlin. Unii colegi din Zurich s-au supărat că nu au fost primii! Când am organizat această întâlnire, exista încă o teamă semnificativă față de biotehnologie, față de o influență comercială asupra științei, implicând bani și

brevete. Știința obișnuia să fie publică, gratuită, fără obligații, iar nedivulgarea rezultatelor era considerată inacceptabilă. Îmi amintesc de noul ultim paragraf de pe formularul pentru cererile de finanțare către Fondul Național Elvețian: Cum intenționați să vă puneți rezultatele în practică? Colegii mei nu înțelegeau întrebarea, atât de departe era gândirea lor cu privire la aplicarea pentru medicamentele viitoare! Acest lucru fusese total nemaiauzit până atunci în cercetarea biomedicală, dar era normal în chimie sau inginerie. Astăzi, în fiecare an se poate participa la concursuri pentru susținerea companiilor *spin-off* la aproape fiecare universitate. Compania de biotehnologie a lui McCormick a fost una dintre cele mai de succes. Am învățat de la el, dar probabil nu suficient pentru a avea un succes similar.

O ușă cu scurgeri, cai Lipizzan, șeici - și publicare sau dispariție

În Philadelphia, SUA, în calitate de Chief Scientific Officer (CSO) al unei companii de biotehnologie numită Apollon, am condus dezvoltarea unui vaccin împotriva HIV. Acesta se baza pe un principiu nou, pe plasmide ADN goale („goale” înseamnă ADN fără înveliș sau ambalare în particule). Acesta a fost testat pe voluntari infectați cu HIV în Zurich și Philadelphia în anii 1990. Vaccinul este o plasmidă ADN, un ADN circular cu două catene, care transferă gene în mușchi. Acesta imită o infecție virală la pacient și duce la producerea de antigene HIV și apoi, așa cum am sperat, la anticorpi protectori. Aceasta a fost prima de acest fel în Europa. A fost fără efecte secundare timp de trei ani. Siguranța este extrem de importantă pentru un vaccin, deoarece acesta este aplicat în mod normal persoanelor sănătoase sau tinerilor. Am injectat unui pacient un vaccin HIV „greșit”, care nu corespundea cu tulpina infecției sale. La început am fost șocați. Cu toate acestea, un studiu clinic de fază I este doar pentru testarea siguranței, și nu a eficacității, așa că nu a contat - dar a fost suficient de jenant. Acum, acest vaccin, în combinație cu un alt vaccin împotriva HIV, este investigat în armata americană, deoarece vaccinul ADN nu este foarte eficient de unul singur.

De asemenea, am aplicat această abordare la pacienții bolnavi de cancer cu melanom malign, injectând ADN la locul tumorii, care a exprimat un stimulator imunitar (interleukina-12) ca sprijin pentru sistemul imunitar al pacientului de a lupta împotriva cancerului, melanom malign. Am determinat o bună reducere a tumorii la șoareci - și chiar la cai albi. Două modele animale sunt cerute de autoritățile de reglementare. Am ales caii albi pentru că aceștia suferă de melanoame maligne, chiar dacă nu mor din cauza lor. Tumorile s-au micșorat sub tratamentul nostru, iar animalele au scăpat de sacrificare. Acest lucru ne-a adus invitații la ferma de creștere a cailor albi Piber din Austria, unde sunt crescuți caii Lipizzan din Castelul Viena. Dar nu putem reduce decât tumorile individuale și nu putem oferi vindecări sistemice, ceea ce nu a fost considerat suficient de bun, din păcate.

Pentru a trata pacienții, este necesar un material fabricat în conformitate cu bunele practici de fabricație (GMP), ceea ce face ca materialul să fie foarte scump de produs (aproximativ un milion de dolari). Acesta este blocajul pentru noile terapii. Compania Berna, din Berna, Elveția, a furnizat cu amabilitate materialul, dar l-a produs de două ori - deoarece o ușă nu s-a închis corect prima dată. Aceasta a fost o pierdere de timp și de bani - dar trebuie să respectăm regulile. Unele tumori ale pacienților au fost reduse în dimensiune și chiar un picior a fost salvat de la amputare. Ne-am dus un pic mândri de rezultatele noastre la Hoffmann-La Roche, care a spus că deține drepturile de brevet. Spre dezamăgirea noastră, nu au fost interesați de nicio urmărire. Ei folosiseră compusul înainte, la o concentrație de o mie de ori mai mare, și descoperiseră că acesta ucide pacienții. Noi știam despre concentrațiile ridicate și le evitasem. Dar chiar și așa, nimeni de acolo nu a mai vrut să se atingă de el.

Mai târziu, au urmat alte probleme, ca o surpriză: Investigatorul clinic a ignorat limita de vârstă pentru selectarea unuia dintre cei doisprezece pacienți - doar cu câțiva ani, dar suficient pentru a provoca probleme grave cu autoritățile elvețiene. El decisese acest lucru în interesul pacientului, dar împotriva protocolului de studiu clinic, și a fost aspru mustrat pentru acest lucru.

Nu luați nici o picătură de lacrimi, salivă, spermă sau urină de la un pacient pentru cercetare fără permisiunea unui comitet de etică! Regulile sunt stricte. (Am folosit recent material seminal dat anonim de la colaboratorii științifici pentru a testa efectul asupra unui microbicid, pe care încercăm să îl dezvoltăm - a fost nevoie de luni de zile pentru a rezolva acest aspect cu autoritățile legale și pentru a continua procesul de revizuire a rezultatelor în vederea publicării).

Apoi, unui coleg i-au plăcut rezultatele noastre clinice privind cancerul de piele și a oferit terapia unor șeici din Emirate - fără să ne informeze, deși noi eram inventatorii. Acest lucru a fost adus în discuție în mod public și ne-a întrerupt contactul cu colegul - ceea ce a fost foarte nefericit, deoarece am fi putut vindeca oameni. În schimb, au fost inițiate lupte pe tema autorilor. Un „mediator" (nu știam până atunci ce este asta!) a fost numit de universitate pentru a rezolva problema. Am îngropat o vară frumoasă sub o grămadă de protocoale și date ale pacienților, pentru a le combina pe toate de unul singur pentru o publicație. Acest lucru a funcționat - cu toate acestea, fără consecințe pentru studiile ulterioare, deoarece, între timp, reglementările autorității europene EMEA se schimbaseră și deveniseră prea stricte și costisitoare pentru un studiu clinic bazat pe cercetare, cum era al nostru. În viitor, toate analizele pacienților vor trebui plătite separat - la fel și investigatorii clinici, asistentele medicale din studiu - aproximativ 100 000 de dolari pe caz. Fără speranță. De asemenea, la Charité din Berlin, nu am reușit să negociem un contract mai ieftin. Patru ani au fost pierduți. De atunci, prețiosul compus, fabricat în condiții GMP costisitoare, a fost depozitat într-un frigider de siguranță, pentru că nu mă pot decide să-l arunc.

Ar merita menționat faptul că noile vaccinuri împotriva virusurilor Ebola și Zika, care trebuie dezvoltate foarte rapid în 2015 și 2016, se bazează pe acest tip de vaccinuri ADN, deoarece este nevoie doar de cunoașterea secvenței virusului, de capacitatea de a sintetiza ADN pentru pacienți și de o anumită expertiză biotehnologică. Cu excepția faptului că vaccinurile sunt adesea destul de slab imunogene și pot necesita componente suplimentare de stimulare a imunității. Cu toate acestea, ele sunt sigure, stabile, ușor de expediat și ușor de depozitat în locuri îndepărtate.

Iar lucrările - „De ce sunt ele atât de importante?", se vor întreba unii cititori. Acestea reprezintă baza pe care se judecă succesul științific și pe baza căreia se decid cererile de fonduri suplimentare. Evaluarea unei lucrări se bazează adesea pe criterii extrem de controversate. Calitatea unei lucrări este adesea garantată de prestigiul revistei care o acceptă după o evaluare critică de către referenți anonimi, ale căror nume nu vor fi niciodată dezvăluite. (Foarte puține reviste încearcă să schimbe acest tip de politică prin „revizuirea deschisă de către colegi"). Acest proces de revizuire durează adesea un an, timp în care este posibil ca colaboratorii să fi plecat, iar obiectivul grupului să se fi schimbat - ceea ce poate ridica, de asemenea, probleme. Revistele sunt clasificate în funcție de așa-numitul „factor de impact", variind de la 1 la 60, care este numărul mediu de citări pe an de către alte articole, *Nature*, *Cell*, Science și unele reviste medicale fiind cele mai bine cotate. Calitatea unui articol poate fi cuantificată prin „indicele de citare științifică" al revistei. Revistele publică acest număr pentru a atrage oamenii de știință să aleagă revista pentru a trimite o lucrare. (Factorul „h" reflectă numărul de citate pe care le primește un autor și este utilizat mai rar). Acești parametri trebuie indicați în cererile de angajare, de la postdoctoranzi la profesori, și constituie baza pentru fondurile de cercetare. Nu întotdeauna ești atât de norocos încât să primești un „grant de bază" uriaș pentru cercetarea cancerului de la Dr. Mildred Scheel personal. Ea a fost soția unui fost președinte german și fondatoarea German Cancer Aid, și a murit ea însăși de cancer, din păcate. Cât de norocos am fost să primesc un cec pentru cercetarea HIV de la un bancher elvețian după un interviu televizat, fără să scriu nicio cerere de subvenție, așa cum mi s-a întâmplat odată.

Iată câteva cifre: De-a lungul multor ani, am scris până la opt propuneri pe an, presupunând că fiecare dintre ele va fi finanțată cu 50% până la aproximativ 200.000 sau 300.000 de dolari. O lucrare în domeniul meu de cercetare costă peste 600.000 de dolari și necesită, în medie, doi ani de cercetare intensă. Contribuabilii finanțează o mare parte din cercetarea noastră - hobby-ul meu! Sunt recunoscător.

Pentru a deveni profesor sunt necesare între 50 și 100 de lucrări, dintre care câteva foarte prestigioase, și un domeniu de cercetare promițător pentru viitor. Cincisprezece lucrări, în care candidatul este primul sau ultimul autor, sunt necesare pentru o *Habilitation* (calificare în țările

germanofone pentru a preda la o universitate). În trecut, femeile aveau nevoie de mai multe lucrări decât bărbații; în prezent, ele se descurcă cu mai puține pentru o catedră! Lista autorilor este rareori alfabetică, așa cum este adesea în fizică. Omul de știință care a adus cea mai mare contribuție experimentală este primul, iar liderul grupului de cercetare este ultimul. Furnizarea de bani nu mai este un criteriu pentru coautorat. Un șef nu mai este automat ultimul autor important. Fiecare autor trebuie să înțeleagă toate datele, nu numai contribuția sa, și corectitudinea acestora - o nouă obligație recentă pentru a reduce frauda științifică! Recent, a devenit uzual să se specifice contribuția fiecăruia și să se declare orice interese comerciale într-un paragraf la sfârșitul lucrării. Eu recomand încă o declarație: autorii ar trebui să confirme că au tratat corect literatura de specialitate. Este extrem de „util" (dar constituie o abatere științifică) să omiteți contribuția unui concurent, în speranța că recenzorii nu vor afla - și să obțineți astfel o publicație nejustificat de bine clasată, ca și cum rezultatele ar fi noi! Am menționat câteva cazuri în care am experimentat acest lucru. Obținerea de fonduri nerambursabile este importantă pentru numiții universitari. Fiecare trebuie să contribuie la finanțarea cercetării sale și, adesea, și la o parte din infrastructura universității. Sprijinul din partea companiilor comerciale ridică întotdeauna unele îngrijorări. Predarea este de asemenea evaluată, adesea printr-un vot al studenților, și apoi: mult noroc. După o selecție reușită, nu doresc nimănui răzbunarea perdanților - aceștia cunosc adesea mai bine structura universității și rețelele locale și au mai mult timp pentru lupte. Cel puțin asta mi s-a întâmplat mie: discriminare, acuzații false publicate anonim și amenințări directe, chiar de la „colegi" de top cu cele mai mari premii. Știu despre ce vorbesc și le urez tuturor mai mult noroc.

„Vaccinarea țânțarilor" împotriva virușilor

Terapia genică vizează recent și țânțarii. Nu mă refer la țânțarii care ne deranjează în serile blânde de vară la grătarele din apropierea lacurilor sau a apelor liniștite. Aceștia nu sunt în mod normal periculoși - dar alții sunt! Unul dintre aceștia este „țânțarul febrei galbene" (*Aedes aegypti*), care transmite virusul febrei *dengue* (DFV), precum și alți viruși care cauzează virusul febrei *West Nile* (WNV), febra galbenă și *Chikungunya* (care este limitată în principal la insula franceză La Reunion). Foarte recent, s-a descoperit că și virusul Zika face parte din această familie de flavivirusuri. Acestor țânțari le place căldura și umezeala, așa că suntem în siguranță în Europa de Nord - deși, chiar și așa, un „țânțar tigru" înrudit (*Aedes albopictus*) a fost observat recent ca vector în Frankfurt.

Din întâmplare s-a observat că țânțarii infectați cu bacterii pot produce substanțe antivirale, care pot ucide virușii. (Probabil că bacteriile poartă fagi pentru a produce toxina.) Această combinație trebuie introdusă în țânțarul periculos. Cum? Prin microinjecție - sună total nerealist. Într-adevăr, acest lucru nu este trivial de făcut pentru țânțari, dar s-a făcut! Speranța este că unii țânțari manipulați sunt suficienți și îi vor crește pe ceilalți. Cu toate acestea, adesea astfel de „insecte de design" cresc mai lent. Cu toate acestea, acest proiect de utilizare a țânțarilor designeri care conțin bacteria *Wolbachia* împotriva virusului febrei *dengue* este susținut de Fundația Bill & Melinda Gates din Australia, dar multe alte țări și-au declarat interesul: Vietnam, Thailanda, Indonezia și Brazilia, precum și armata SUA pentru a-și proteja soldații care au suferit în timpul războiului din Vietnam. Cincizeci de milioane de oameni se îmbolnăvesc de acest virus în fiecare an, dintre care 600 în Germania. Există o nouă tendință: țânțarii tigru vin din sudul Europei prin Elveția în Germania - mai la nord decât oricând înainte; acest lucru este atribuit încălzirii globale. Se cunosc patru tipuri de virus al febrei *dengue*, o a doua infecție crescând riscul unor reacții secundare severe, cum ar fi febra hemoragică, care poate fi letală. Se folosește termenul de „vaccinare împotriva țânțarilor", dar denumirea este greșită. Acesta nu este un vaccin, ci o infecție cu bacterii cu fagi care produc toxine (amintiți-vă EHEQ). Metoda este ieftină și simplă și nu sunt necesare pesticide care ar putea duce la apariția unor viruși rezistenți. Rămâne de văzut în ce măsură va avea succes. Rezultatele recente obținute în Australia par promițătoare.

În prezent, oamenii folosesc manipularea genelor pentru a produce țânțari masculi sterili, care se împerechează fără a produce descendenți. Populația ar trebui să dispară. Aceasta se numește

SIT - tehnica insectelor sterile. Din păcate, masculii sterili sunt mai leneşi decât tipul sălbatic! Alternativ, aceştia pot chiar transfera o genă, ceea ce duce la denumirea de „gene-ţânţar”. Genele din masculi ar trebui să influenţeze femelele astfel încât acestea să producă doar masculi, ceea ce ar opri şi producţia de progenituri. Există, de asemenea, o ciupercă în curs de cercetare pentru a ucide larvele de ţânţari. Care dintre aceste concepte fantastice va fi aplicat la noua ameninţare reprezentată de virusul Zika, pe lângă pulverizarea de insecticide?

Este important de remarcat faptul că insecticidele sunt frecvent utilizate, iar acestea tind să dea greş pe termen lung. Bacteria *Bacillus thuringiensis* (Bt), care poartă o plasmidă ADN pentru o toxină, este autorizată în UE pentru utilizare ca pesticid, deoarece otrava este complet biodegradabilă - dar apar rezistenţe.

Ţânţarii se adăpostesc în rezervoarele de apă de ploaie, în canistrele de apă, în vasele de flori din cimitire - şi sunt un test al noii abordări pentru cercetarea pe teren în Europa printr-un „proiect ştiinţific al cetăţenilor”: prin care cetăţenii sunt încurajaţi să colecteze ţânţari şi să îi trimită pentru caracterizare. Un astfel de proiect ne va oferi răspunsuri epidemiologice importante cu privire la migraţia ţânţarilor. Ajung ei la nord de Frankfurt?

O abordare similară celei utilizate împotriva ţânţarilor tigru este urmărită împotriva ţânţarilor *Anopheles*, care transmit malaria.

Recent, vaccinarea cu una dintre proteinele DFV a fost testată pe şoareci. Vaccinul a constat într-o proteină nestructurală recombinantă (NS1) a DFV şi a protejat şoarecii împotriva virusului. Proteina a fost identificată recent ca cauzând scurgerea vaselor de sânge şi este posibil să fi fost ignorată pentru o lungă perioadă de timp.

Vaccinurile împotriva bolilor tropicale pot fi acum produse mai rapid de la ultimul focar de Ebola din 2015 şi deciziile ulterioare ale summitului G7 din Elmau, Germania, probabil şi împotriva Zika. Vaccinurile ADN pot fi sintetizate şi produse rapid, dar au nevoie de suplimente.

Viruşi pentru terapia plantelor

Cum pot fi hrăniţi toţi oamenii de pe Pământ în viitor? În urmă cu o sută de ani, Fritz Haber a dezvoltat fixarea azotului şi îngrăşămintele la Berlin, iar astăzi acestea sunt esenţiale pentru producţia alimentară. Avem nevoie de o altă descoperire pentru supravieţuirea noastră. Sunt organismele modificate genetic (OMG) viitorul? Avem porumb şi roşii modificate genetic, pe care mulţi consumatori europeni le refuză în teorie, dar le cumpără oricum pentru că produsele sunt mai ieftine. Cât timp ne mai putem permite o astfel de respingere? UE a decis că porumbul tratat cu *Bacillus thuringiensis* (Bt), care poartă o genă toxinică împotriva insectelor, este permis şi a publicat această decizie. Apoi există porumbul rezistent la erbicide, care nu este afectat de erbicide. De asemenea, cartofii speciali bogaţi în amidon, care nu sunt destinaţi alimentaţiei, ci unor scopuri industriale, sunt autorizaţi ca organisme modificate genetic, sau produse recombinante, OMG-urile. Mai recent, nu mai depinde de UE, ci de fiecare ţară în parte să decidă în privinţa OMG-urilor. Amintiţi-vă că fagii pulverizaţi pe cartofi sporesc de cinci ori recolta. O opţiune de viitor în producţia alimentară fără OMG-uri? Eu o prefer. Terapia genică a plantelor poate fi realizată cu bacterii speciale, care provoacă tumori la plante. Este surprinzător faptul că plantele pot avea tumori - într-adevăr, bacteriile au numele semnificativ *Agrobacterium tumefaciens* şi produc „galoane de coroană” în plante. Bacteriile sunt infectate cu un ADN de tip fag, plasmidele Ti inducătoare de tumori. Aceste plasmide ADN circulare nu se integrează în genomul bacteriilor, dar sunt transferate de acestea în celula plantelor, unde se integrează în genom şi induc tumori. Se ştie că terapeuţii genici reuşesc să întoarcă lucrurile şi să înlocuiască genele tumorale cu gene terapeutice. Astfel, retroviruşii cu oncogene devin viruşi cu gene terapeutice. În mod analog, genele inducătoare de tumori sunt înlocuite cu gene terapeutice, cum ar fi genele producătoare de toxine din plasmidele Ti, îndreptate împotriva paraziţilor din plante. Aceste organisme modificate genetic (OMG) îi sperie pe mulţi agricultori şi consumatori şi ţin autorităţile juridice ocupate să elaboreze reglementări acceptabile. Aproximativ 80% din soia, bumbac şi porumb sunt plante modificate genetic în SUA,

cu o creştere semnificativă a randamentului. Noul proiect comercial TTIP ar putea influența puternic astfel de aplicaţii.

Acum vine un şoc: porumbul modificat genetic a fost oferit ca hrană şobolanilor - care au dezvoltat tumori în decurs de doi ani. Acesta a fost opusul a ceea ce se aştepta, chiar dacă plasmidele Ti şi-au respectat numele şi au indus tumori la şobolani. Acest rezultat a pus în pericol nu numai planta OMG respectivă, ci şi întregul sistem utilizat pentru terapia genică, plasmidele Ti fiind purtătoare de gene terapeutice. Cu toate acestea, nu se poate concluziona imediat dacă oamenii vor avea o problemă similară cu cea a şobolanilor. Poate că şobolanii au fost supraalimentaţi, supradozaţi cu un singur tip de mâncare. Acest lucru este posibil, dar este un test obişnuit pentru dezvoltarea medicamentelor: definirea „dozei maxime tolerate”. Nimeni nu va mânca atât de mult. Aşadar, un pic de porumb modificat genetic nu ar fi periculos? Doza maximă este testată pentru a include riscul posibil pentru copii, bătrâni, persoane bolnave sau slabe. S-ar putea reduce doza de gene terapeutice din porumb ca alternativă? Aceasta ar fi o întrebare bună. Poate că crescătorii au supra-exprimat toxina.

Publicaţia referitoare la dezvoltarea tumorilor induse de porumb la şobolani a provocat un scandal. Protestatarii au subliniat că statisticile nu erau suficient de bune şi au susţinut că numărul de animale testate fusese prea mic şi că datele nu susţineau suficient concluziile. Autorilor li s-a spus să retragă lucrarea - dar nu au făcut-o. Aceştia au argumentat că manuscrisul lor fusese supus unei evaluări ştiinţifice, iar referenţii îl acceptaseră pentru publicare. Atunci de ce ar trebui să îl retragă în retrospectivă? Discuţia a continuat: au fost ridicate obiecţii conform cărora greşeli evidente au fost trecute cu vederea şi, în cele din urmă, editorul a declarat că lucrarea deja publicată a fost retrasă. Ce a fost greşit? Datele? Statisticile? Evaluatorii au fost incompetenţi? Într-adevăr, lipseau unele controale! Acesta a fost un caz unic. Ce se întâmpla în spatele scenei? A fost implicată vreo constrângere? Era vorba de ştiinţă sau de comerţ? Consumatorii devin sceptici.

Cea mai nouă abordare a modificării genelor şi a inversării bolilor se bazează pe metoda CRISPR/Cas9, un sistem de apărare antiviral al bacteriilor împotriva fagilor. Genele pot fi modificate într-un timp foarte scurt, deşi - interesant - nu prin inserarea sau recombinarea - unei bucăţi de ADN, ci prin furnizarea unei secvenţe ghid şi lăsând celula să facă corecţia citind secvenţa „ghid”, o procedură definită drept „editare”. Nu este implicată nicio tehnologie recombinantă, astfel cum este definită de legea privind OMG-urile. Este necesară o nouă lege pentru această nouă tehnologie? Până la intrarea în vigoare a unei legi, pot fi generate o mulţime de organisme modificate! Cred că autorităţile nu au observat încă acest deficit!

Pot virușii să salveze castanii și bananele?

Castanii mor din cauza ciupercilor. Pot fi salvaţi? Pot virușii să ajute la prevenirea morţii lor? În Neustadt in Holstein, în nordul Germaniei, oraşul copilăriei mele, ulmii centenari au fost tăiaţi cu toţii, lăsând în urmă o piaţă imensă şi pustie şi o biserică gotică din cărămidă roşie, gotică, a cărei dimensiune nimeni nu o observase până atunci. În plus, aleea de lângă Marea Baltică era goală şi îşi pierduse tot farmecul. Place des Vosges, Palais Royale, Avenues Parisienne, parcuri peste tot - nimic altceva decât defrişări. „Ulmul lui Napoleon” a murit în 1977, deşi cel puţin o felie din el a ajuns într-un muzeu din Bonn. Stejarii au dispărut. Vor fi următorii care vor dispărea fagii? Cum s-a ajuns la sfârşitul ulmilor? O ciupercă este introdusă de un gândac, gândacul de spintecat ulmii. Acesta rupe scoarţa şi pătrunde în interior, transportând sporii ciupercii. Larvele gândacilor sapă apoi mine, canale, în interiorul copacilor, unde toxinele ciupercii încep să acţioneze. Acestea astupă canalele de sevă, astfel încât apa sau substanţele nutritive nu mai pot urca, iar copacii sunt sugrumaţi. Ciuperca a venit la începutul secolului trecut, din Asia în SUA şi apoi în Europa, şi a provocat pagube grave. S-au ascuns ciupercile în petele de apă din anvelopele vechi ale maşinilor în timpul transportului către Europa? Există unele anecdote care sugerează acest lucru. Ce se poate face, în afară de tăierea arborilor? Moartea castanilor este o poveste similară. Boala este „arsura castanului”. America a fost lovită de ea acum 100 de ani. Molima castanilor a distrus patru miliarde de copaci în SUA, păduri întregi. Castanii sunt simboluri ale coastei de est a Americii. Fan cluburile

și entuziaștii arborilor au intrat în acțiune și au încercat să salveze castanii. Ciuperca *Cryphonetria parasitica* sau pe scurt *C. parasitica,* a fost introdusă din China în 1904. Cu și fără gândaci, chiar și fără „minerit”, reușește să distrugă copacii groși de metri. Păsările, insectele, picăturile de ploaie sau vântul pot transporta sporii la următoarea victimă a copacilor. S-a încercat totul pentru a opri dezastrul: fungicide, gaze sulfuroase, radiații; chiar și unele ceremonii au fost efectuate. Poate că mayașii aveau exact acest tip de problemă în agricultură și sacrificau oameni pentru a-și mulțumi zeii. În Austria au apărut brusc noi superbacterii, căpușe asiatice, și, ca măsură de precauție împotriva răspândirii lor, au fost tăiați toți arțarii din raza de acțiune - am văzut acest dezastru în 2015. Căpușele au migrat în palete, materiale de ambalare din China care ar fi trebuit să fie dezinfectate în prealabil, dar nu au fost. Acum câinii sunt dresați să simtă mirosul insectelor.

În China, castanii sunt rezistenți. Prin urmare, genomul lor a fost secvențiat și a fost identificată gena de rezistență. Această genă este acum transferată prin plasmida Ti la bacteria *A. tumefaciens*. De asemenea, otrava broaștei a fost clonată în plasmidă și este de așteptat să distrugă ciupercile; în mod similar, genele pentru spanacul amar sunt pe lista pentru transferul orizontal de gene prin plasmidele Ti.

Oamenii de știință elvețieni au dezvoltat o terapie genică pentru castani folosind un virus, numit *hipovirus*, care paralizează ciupercile arborilor. Acest virus ciudat este relativ necunoscut. (Este format din ARN dublu-catenar gol și nu are o haină reală, ci doar una sau două gene codante, și este specific împotriva ciupercilor). Din păcate, virusul se dezvoltă doar în interiorul ciupercilor și se deplasează de la o ciupercă la alta. Prin urmare, ciupercile infectate cu virus sunt utilizate pentru tratarea copacilor. Acolo se speră ca virusul să se mute la ciupercile naive pentru a le ucide - dacă este posibil pe toate! Fiecare copac are nevoie de un tratament individual, un medicament personalizat pentru copaci! Acest lucru este prea complicat chiar și pentru ecologiștii elvețieni! Cercetătorii chinezi încearcă să salveze semințele de porumb și rapiță de infecția fungică într-un mod similar, prin răspândirea ciupercilor infectate cu virus. Rădăcinile, de asemenea, sunt tratate.

Cu toate acestea, cea mai sigură cale este abordarea de modă veche, prin încrucișarea arborilor chinezi rezistenți cu speciile pe cale de dispariție din SUA. Șase procente din genele chinezești sunt suficiente pentru a conferi rezistență arborilor americani. Chiar și așa, aceștia nu seamănă prea mult cu copacii chinezi și nu au frunze păroase, care nu le plac americanilor. Dar acest lucru necesită timp. În Germania, vedem și castani bruni și ne facem griji pentru ei, dar „minarea” aici nu este chiar atât de gravă, deoarece sunt afectate doar frunzele și nu tulpinile, astfel încât doar frunzele cad și nu moare întregul copac. Castanii roșii, care sunt atât de tipici Berlinului în luna mai în jurul Pieței Breitenbach, sunt mai puțin amenințați. Norocul Berlinului: nu se așteaptă terapia genică prin plasmide Ti cu gene otrăvitoare sau de spanac - singura protecție disponibilă împotriva ciupercilor este colectarea de modă veche a frunzelor în toamnă pentru arderea imediată.

Bananele sunt foarte importante ca hrană. Acestea sunt, de asemenea, amenințate de ciuperca *Sigatoka*. Genomul bananelor, care a fost secvențiat, se dovedește a fi incredibil de mare, cu 32 000 de gene - mai mare decât al nostru (avem aproximativ 20 000 de gene) din cauza multor duplicări de gene. Au fost detectate doar câteva gene de rezistență împotriva ciupercilor. Plantele din Africa sunt tratate de până la 50 de ori pe an cu insecticide, dar acest tratament nu reușește să combată boala (*Fusarium oxysporum*). Încrucișarea și reproducerea nu sunt posibile, din cauza reproducerii asexuate. Prin urmare, bacteria *A. tumefaciens* cu plasmide Ti este singura speranță și este deja testată în Africa. Cu toate acestea, la nivel mondial, bacteriile nu sunt bine acceptate în alimentație. O nouă variantă este utilizarea unui pistol pentru a injecta plasmidele Ti direct în plante, fără a utiliza bacteriile pentru transfer. „Pistoalele genetice” sunt o opțiune - pe care le-am folosit cândva și pentru a injecta plasmide ADN împotriva cancerului în mușchii pacienților umani, cu un oarecare succes. Seringile cu ace au fost mai eficiente în mâinile noastre - și astfel pistolul scump a ajuns înapoi în cutia sa cu aspect scump, căptușită cu catifea roșie, așa cum a fost livrată de producător.

Alimentele genetice includ și peștii modificați genetic. Factorul de creștere asemănător insulinei (IGF-1) a fost introdus în genomul peștilor, iar acum aceștia cresc mult mai repede cu mai puțină mâncare. Cu toate acestea, nimeni nu a vrut să mănânce astfel de pești uriași - aproape doar o

tumoare mare, de zece ori mai mare decât un peşte normal. Industria farmaceutică îl foloseşte acum pentru a testa noi produse terapeutice - dacă aceşti peşti giganţi sunt relevanţi ca model animal. „Hrana genetică” este un subiect de discuţii aprinse. Laureatul german al Premiului Nobel Christiane Nusslein-Volhard a discutat în public cu un bucătar gastronom profesionist despre alimentele modificate genetic. Din nou, în 2016, ea s-a pronunţat în favoarea alimentelor modificate genetic ca singura modalitate de a hrăni omenirea în viitor. Mai mult de o sută de laureaţi ai Premiului Nobel au semnat recent o petiţie în favoarea alimentelor modificate genetic. Totuşi, este nevoie de mai multă cercetare. Şi transparenţă. Amândoi au publicat cărţi de bucate foarte bune. Roşiile modificate genetic au intrat în ketchup-ul ieftin - iar consumatorilor nu le pasă de controversele ştiinţifice, ci merg pe preţul mai mic.
Ar trebui să ne amintim de fagi.

Ciupercile fac sex în locul virușilor

Dar ciupercile - au viruşi? Desigur, şi ciupercile au viruşi! Nu există viaţă pe planeta noastră fără viruşi. În Zurich, micul meu birou se află lângă „laboratorul de drojdii” al universităţii pentru diagnosticarea spitalelor. Acolo se pot diagnostica „doar” aproximativ 1000 de tipuri de drojdii, când de fapt există milioane de specii. Un dermatolog a comentat: „Cele mai multe dintre ele nu ne îmbolnăvesc”. Aşadar, este aceeaşi poveste peste tot: ciupercile, viruşii, *arhaea* şi bacteriile nu provoacă în primul rând boli. Desigur, există unele infecţii fungice patogene. Acestea sunt uneori neplăcute şi cineva vrea să scape de ele atunci când apar în vagin sau sub unghiile de la picioare. Ele pot provoca, de asemenea, infecţii pulmonare grave, cu 1,5 milioane de decese pe an în întreaga lume. Ciupercile pot provoca mucegai nesănătos în băi, pivniţe şi frigidere - şi în cabanele din Parcul Naţional Yosemite din SUA. O măsură împotriva lor este un curent brusc sau o mişcare de aer proaspăt, care este, prin urmare, inclusă ca o datorie zilnică necesară în apartamente. Nu au murit arheologii când au deschis piramidele egiptene pentru prima dată după mii de ani - inhalând spori de ciuperci? Acolo nu a existat niciodată ventilaţie. Sporii folosiţi de ciuperci pentru propagarea lor pot fi nocivi pentru culturi şi au provocat „focul Sfântului Anton” în Evul Mediu. Unele picturi medievale de pe Altarul Isenheim din Colmar prezintă pacienţi suferinzi rugându-se pentru ajutor. Contaminările fungice se găsesc pe nuci, în special pe arahide, pe fructele uscate şi în condimente. O combinaţie de virusuri şi ciuperci, în special aflatoxinele otrăvitoare de la *Aspergillus fumigatusy*, poate fi o combinaţie îngrozitoare pentru dezvoltarea cancerului la oameni.
Ciupercile au afectat şi politica atunci când Irlanda a fost lovită de „arsura cartofului” care a dus la Marea Foamete din 1845, când două milioane de irlandezi au emigrat în SUA şi mulţi alţii au murit de foame.

Virusul herpetic „virusul Epstein-Barr” (EBV) conduce, împreună cu ciupercile, la cancerul nazofaringian în Extremul Orient şi, împreună cu virusul hepatitei B (HBV), la carcinomul hepatocelular (HCC), o formă de cancer hepatic. Aflatoxinele de pe partea superioară a gemului sau din pâine sunt nesănătoase şi aceste produse alimentare, dacă sunt afectate, ar trebui aruncate. Cu toate acestea, avem nevoie de un subgrup de ciuperci, cum ar fi drojdia unicelulară de panificaţie, *Saccharomyces (S.) cerevisiae*, pentru pâine şi, de asemenea, pentru fabricarea berii - şi a vinului - şi nu uitaţi: ciupercile ne-au furnizat antibioticul penicilină.

Fungi sunt dificil de clasificat. Ele sunt microorganisme eucariote (care conţin nucleu), apropiate de organismele superioare, mai apropiate de animale decât de plante. Marele organizator sistematic Carl von Linné nu ştia unde să le pună în schema sa de clasificare. Ele sunt separate de celelalte regnuri de viaţă: plante, animale, protişti şi bacterii.

Ciupercile pot fi mici şi unicelulare, precum drojdia, dar pot atinge şi cea mai mare dimensiune observată vreodată pentru un organism viu. Rădăcinile ciupercilor se pot întinde pe suprafeţe la fel de mari ca terenurile de fotbal, cântărind tone. Ciupercile sunt foarte cooperative, intrând în simbioză cu aproape toate plantele şi ajutându-le să extragă nutrienţii din sol. Împreună cu virusurile, ele pot face plantele rezistente la căldură, astfel încât acestea să poată supravieţui mai mult în perioadele de secetă. Virusul se numeşte *Curvolaria thermal tolerance virus* şi trăieşte într-o

simbioză triplă cu ciuperca și planta, permițând plantei să supraviețuiască la 65°C. Virușii împotriva încălzirii globale ar trebui să atragă atenția! Acest lucru ar trebui promovat; poate că poate ajuta la economisirea apei fosile. Fermierii din California folosesc prețioasa apă fosilă forând mii de metri în pământ pentru a-și iriga migdalii, chiar dacă apa este de neînlocuit. Patru miliarde de oameni se vor confrunta în curând cu lipsa apei. Nu mai cumpăr migdale, deoarece fiecare migdală necesită 4 litri de apă.

Ciupercile pot deveni foarte vechi - până la 2400 de ani (poate în interiorul piramidelor egiptene?). Ele pot forma spori, ceea ce le face să fie cele mai longevive specii de pe planeta noastră - și poate chiar din altă parte. Sunt rezistente la radiații, presiune ridicată, vid, căldură sau frig. Este posibil să fi fost pe Pământ în ultimii 1,5 miliarde de ani. Sporii au fost închiși în chihlimbar timp de 30 de milioane de ani, iar recent unii dintre aceștia au fost readuși la viață - dacă această afirmație este într-adevăr adevărată. Unii sceptici nu prea cred acest lucru, susținând că ar fi putut fi vorba de o contaminare de laborator. Apollo 12, în călătoria sa spre Lună, a transportat accidental niște spori într-o cutie din polistiren. Aceștia s-au întors vii, în ciuda expunerii la vid și raze cosmice, despre care se știe că pot mutageniza materialul genetic.

Drojdia Baker a fost deja selectată pentru secvențiere în 1996, din cauza genomului său mic, care cuprinde doar 13 milioane de nucleotide. Titlul publicației a fost: „*Trăind cu 6000 de gene*” (noi avem 20.000). Acestea sunt distribuite pe 16 cromozomi. Drojdia de panificație și oamenii au deviat de la un strămoș comun în urmă cu aproximativ un miliard de ani, iar noi împărtășim câteva mii de gene similare. Aproximativ 25% din genele drojdiei de panificație sunt înrudite cu genele umane. Prin urmare, drojdia a fost utilizată ca sistem model pentru eucariote. Oncogenul Ras, cunoscut din retrovirusuri, are o rudă în drojdie și a fost caracterizat acolo, prezentând unele diferențe. Acum, genele de drojdie au fost înlocuite, una câte una, cu aproape 500 de gene umane în cadrul noului domeniu de cercetare care se numește biologie sintetică. În ciuda divergențelor mari de secvență, s-a constatat că acestea îndeplinesc funcții similare (ortologe), încadrându-se în căile metabolice. Acest lucru a fost foarte surprinzător. Drojdia va fi un „microlaborator” pentru a produce nutrienți umani, medicamente precum taxolul împotriva cancerului de sân sau artemisinina împotriva malariei, sau arome precum vanilina. În viitor, se va putea „umaniza” drojdia prin înlocuirea unor căi întregi pentru producerea compușilor, analiza și depistarea medicamentelor - folosind drojdia în locul șoarecilor sau a oamenilor! Acest lucru ar fi simplu și rapid. Drojdia are numeroase avantaje față de bacterii: este mai sigură, componentele sale sunt mai ușor de izolat, iar producția sa poate fi mărită.

Virusurile ciupercilor, *Mycoviruses*, sunt mai degrabă inactive; nu își părăsesc niciodată gazda, nu poartă un înveliș proteic și nu se replică, ci se bazează mai degrabă pe diviziunea celulară a gazdei. Particulele virale libere din afara celulelor sunt rare sau nu există deloc. Acestea nu au aproape nicio viață extracelulară, dar persistă în interiorul celulelor. Ciupercile pot transmite virușii fără să se reproducă. Drojdia unicelulară de panificație este infectată de narnavirusuri, care - după cum indică și numele lor - conțin ARN. Acestea sunt minuscule, de doar jumătate din dimensiunea poliovirușilor sau picornavirușilor, cuprinzând 2900 de nucleotide. (Un Hantavirus este format din ARN monocatenar cu o structură stabilizatoare de buclă în ac de păr protejată la fiecare capăt de o structură în formă de frunză de trifoi; nu are înveliș și codifică o singură proteină multifuncțională responsabilă de replicare, ambalare și protecția ARN, o variantă multifuncțională surprinzător de minimalistă a unui virus. Ciupercile produc mii de copii de ARN viral, care persistă în interiorul celulelor).

Celulele de drojdie le au pe toate: secvențe provenite din infecții anterioare cu retrovirusuri, transpozoni, elemente Ty abreviate cu **y** pentru drojdie. Elementele Ty 1 până la Ty5 sunt retrotranspozoni, Ty3 fiind foarte asemănător cu retrovirusurile (cu LTR, **gag**, transcriptază inversă, nuclează și integrază, dar fără înveliș), asemănător cu retrotranspozonii din insecte, cum ar fi „gypsy” din muște, sau din plante. Este posibil ca elementele Ty3 din drojdie să se fi mutat în strămoșii gazdelor lor actuale, insectele și plantele, prin transfer orizontal de gene. Ty5 este un model pentru studierea arhitecturii telomerilor cu telomerii lor la capetele cromozomiale legate de transcriptazele inverse și mecanismul de integrare (cap. 3). Conform unei interpretări, elementele

transpozabile din drojdie sunt precursorii retrovirusurilor - această idee a fost propusă în anii 1980 de unul dintre descoperitorii transcriptazei inverse, Howard Temin. Sau invers, retrovirusuri degenerate?

Recent, elementele mobile ale drojdiei de panificație au fost utilizate pentru descoperirea de medicamente împotriva HIV și au produs 60 de noi compuși principali pentru potențiale medicamente, după cum a descris Suzanne Sandmeyer din Irvine, California. Proteinele de interacțiune, în număr de 120, influențează, de asemenea, elementele mobile și, potențial, HIV. Acestea sunt factori ai celulei gazdă umane, care interacționează cu HIV ca potențiale ținte ale medicamentelor. Ce relație surprinzător de apropiată între drojdia de panificație și celulele umane - suficient de apropiată pentru depistarea medicamentelor împotriva HIV! Acesta este cu siguranță un lucru de care trebuie să ne amintim atunci când mâncăm produse de panificație sau bem bere!

O specialistă în drojdii, Joan Curcio din Elmhurst, New York, mi-a explicat de ce virușii sunt atât de rari în celulele de drojdie. Celulele de drojdie (pot fi masculine sau feminine) se împerechează extrem de frecvent, ceea ce conduce la o nouă descendență și la un nou material genetic. În multe alte organisme, sarcina de a reîmprospăta fondul genetic este adesea îndeplinită de viruși. Acestea sunt motoare ale evoluției. Nu și în cazul drojdiei. Se poate concluziona în cazul drojdiei: celulele lor fac sex mai frecvent și, prin urmare, au mult mai puțini viruși.

(Sau s-ar putea inversa situația: mai puțini viruși permit mai mult sex?) Bolile cu transmitere sexuală nu sunt cunoscute pentru drojdie. Un alt motiv pentru a savura o bere.

Aproape toate laboratoarele efectuează „testul drojdie cu două hibride”, o abordare elegantă pentru a căuta proteine necunoscute ca parteneri de interacțiune ai proteinelor țintă: se ia o proteină ca „momeală” și se selectează proteine de legare necunoscute ca „pradă”. Dacă legătura este suficient de puternică, se activează un semnal color. Aceasta este o modalitate sigură de a găsi noi parteneri de interacțiune - dacă nu aveți suficientă imaginație pentru noi teme de cercetare. Cu toate acestea, dacă într-adevăr s-a pescuit o nouă proteină, atunci începe munca grea: trebuie să o caracterizăm. Apoi, editorii și recenzorii unui manuscris pun în mod normal toate întrebările posibile și cer toate răspunsurile deodată. Cantitatea de date crește și, în paralel cu aceasta, numărul de colaboratori implicați. În cele din urmă, nimeni nu mai dorește să lucreze la proiect, atunci când colaboratorii care au furnizat rezultatele anterioare fac coadă pentru a fi incluși pe lista autorilor unei publicații. Acesta este momentul în care trebuie să fii un șef diplomat.

Celule stem - aproape celule tumorale?

Un vis al omenirii este tinerețea veșnică sau să fii din nou tânăr - să primești o a doua șansă, să o iei de la capăt, să încerci din nou. Există o pictură medievală în care o baie într-o piscină este suficientă pentru a întineri oamenii foarte bătrâni. Iar un mit grecesc descrie chiar regenerarea organelor: Prometeu a fost pedepsit de zeul Zeus, pentru că a vrut să creeze o ființă umană din lut, iar pentru aroganța sa a fost legat cu lanțuri de o stâncă. În fiecare zi, un vultur venea să se hrănească cu ficatul său, care creștea la loc în fiecare noapte. Cum au știut grecii, acum mii de ani, că ficatul este într-adevăr organul cel mai capabil de regenerare la om? În cadrul unei expoziții muzeale despre celulele **stem** din Zurich, vizitatorii au fost întrebați: v-ați gândit vreodată cât de bătrâni sunteți? Singurele celule care au vârsta indicată pe certificatul de naștere sunt lentilele ochilor și câteva tendoane - celule fără alimentare cu sânge. Restul sunt mai tinere și se reînnoiesc în mod constant: celulele pielii în câteva zile (cele moarte sunt eliminate la gram); părul crește cu un **cm** pe săptămână, unghiile cu 4 cm într-un an, globulele albe trăiesc o zi, iar globulele roșii 100 de zile; celulele din alte organe, chiar și creierul, au o rotație. Aceasta duce la întrebarea: Sunt eu în continuă schimbare? Cine sunt eu? În Miracolul Sibilei din Delphi, cunoscut sub numele de „paradoxul lui Tezeu”, se punea exact această întrebare: dacă toate părțile unei nave sunt complet înlocuite cu altele noi, mai este atunci aceeași navă? Cât de veche este aceasta? În mod similar, templele japoneze din lemn au o structură veche, dar lemnul din care sunt construite a fost reînnoit în mod repetat timp de secole.

Creşterea părului sau a unghiilor - este aceasta auto-reînnoire? Trebuie să fie implicate nişte celule **stem**. Scoateţi un fir de păr din piele şi un mănunchi de celule se lipeşte de partea de jos a acestuia. Unele dintre ele sunt celule **stem** care se pot transforma în celule adulte. Celulele **stem** sunt ascunse într-un con de creştere la baza foliculului. În timpul migrării către suprafaţa pielii, celulele **stem** se diferenţiază prin stimuli secretaţi din mediul înconjurător. Alternativ, embrionii umani sunt o sursă de celule **stem** embrionare umane (ES). Acestea sunt cele mai versatile, totipotente şi se pot transforma în orice tip de celulă adultă în funcţie de stimuli. Ele pot duce la crearea unei noi persoane! Cu toate acestea, ele trebuie să provină din embrioni umani preimplantaţi, rămăşiţe ale fertilizării *in vitro*. Izolarea lor este controversată şi în unele ţări este restricţionată sau interzisă. Oamenii de ştiinţă care doresc să lucreze pe aceste celule trebuie să se mute în alte ţări în care experimentele au fost permise. În Germania, celulele ES trebuie să fi fost izolate înainte de anul 2007. Celulele *stem pluripotente* se dezvoltă în mai multe organe sau tipuri de celule diferite, cum ar fi ficatul. Apoi există celulele **stem** adulte multipotente care înlocuiesc celulele din organe pentru regenerarea acestora şi se pot dezvolta doar în anumite celule; acestea provin din piele, după cum s-a menţionat mai sus, măduvă osoasă sau sânge din cordonul ombilical. Inima şi creierul nu prezintă prea multă reînnoire şi nu au aproape deloc celule **stem**. Celulele **stem** hematopoietice, care sunt izolate din măduva osoasă sau din sânge, pot fi transplantate pacienţilor, ceea ce este un succes în tratarea anumitor leucemii. Celulele **stem** sunt, de asemenea, discutate în legătură cu dezvoltarea cancerului: nu se ştie dacă sunt implicate deloc şi ce rol pot juca pentru terapii. În loc să se vorbească despre „celule **stem** tumorale”, sunt preferate denumiri precum „iniţiatorul tumorii” sau „celule precursoare”. Un fapt surprinzător este că unii părinţi stochează celulele din sângele cordonului ombilical de la nou-născuţi timp de decenii, ca o potenţială „asigurare de sănătate” pentru a trata bolile mai târziu.

Descoperirea pentru studiul celulelor **stem** umane a venit cu un „cocktail”. Ingredientele sale permit reprogramarea unei celule adulte diferenţiate pentru a deveni o celulă **stem**. Visul omenirii devine astfel realitate, deoarece acest cocktail poate transforma celulele adulte de şoarece în celule embrionare. Cocktailul poate „reprograma” celula adultă pentru a o „lua de la capăt”. Tot ceea ce este necesar este un set de patru proteine ca componente ale cocktailului. Acestea sunt denumite c-Myc, Oct4, Sox2 şi Kif4. Toate sunt factori de transcripţie şi fiecare dintre ele poate regla numeroase gene, de fapt sute. Faptul că celulele adulte pot redeveni embrionare este dovedit prin implantarea celulelor tratate cu cocktailul într-un şoarece mamă, în urma căreia se dezvoltă un nou şoarece. Acest experiment este cu adevărat fantastic: o celulă complet specializată (diferenţiată) este transformată din nou într-o celulă embrionară, universal pluripotentă. Acest lucru este posibil, deoarece în fiecare celulă, inclusiv într-o celulă adultă, toate genele sunt prezente, dar numai unele dintre ele sunt exprimate activ, datorită programelor lor celulare. Există două sute de programe diferite pentru cele două sute de tipuri diferite de celule dintr-un organism adult. Factorii de întinerire trebuie să fie capabili să submineze toate aceste programe şi să reactiveze din nou toate genele, pentru a face celula pluripotentă. Deoarece cei patru factori „induc” această stare, celulele sunt numite „celule **stem** pluripotente induse” sau, pe scurt, celule „iPS”. Aceste celule o pot lua de la capăt şi se pot dezvolta în oricare dintre cele 200 de tipuri diferite de celule din organism, prin factori de diferenţiere specifici. O metodă uşoară este plasarea unei iPS în vecinătatea ţesutului pe care se doreşte să îl genereze: de exemplu, celulele musculare existente ajută la producerea de noi celule musculare din celule iPS prin secreţia de factori de stimulare specifici muşchilor. Aceasta este baza medicinei regenerative.

Sistemul iPS a fost dezvoltat de laureatul japonez al Premiului Nobel Shinya Yamanaka de la Universitatea din Kyoto. El a testat sistematic care sunt factorii care pot efectua această reversiune şi a testat 24 de factori în diverse combinaţii. Rezultatul a fost reprezentat de cei patru factori de transcripţie. Vectorii retrovirali transferă genele factorilor în fibroblaste ale pielii umane adulte şi activează sute de gene. Factorul de transcripţie c-Myc stimulează creşterea celulară, conducând celula prin ciclul celular şi diviziunea celulară. Cu toate acestea, c-Myc apare şi în multe celule tumorale, în cancerele cerebrale sau pulmonare, şi a fost descoperit iniţial ca oncogen al retrovirusurilor, după cum s-a menţionat mai sus. Astfel, dacă este dereglementat şi dacă este produs

în cantitate prea mare, celulele pot deveni celule tumorale. Aceasta demonstrează problema cu celulele **stem**. Acestea se află într-o apropiere periculoasă de celulele canceroase. O celulă tumorală nu poate fi oprită din creştere. Cum se poate opri o celulă **stem**? Mai întâi se doreşte ca celulele să crească, apoi se doreşte oprirea creşterii. Sunt în curs de dezvoltare trucuri pentru a activa sau dezactiva cei patru factori într-un mod definit, în funcţie de necesităţi. De asemenea, aceştia trebuie să fie controlaţi şi exprimaţi în doza corectă. Acest lucru va reduce riscul de apariţie a tumorilor.

Yamanaka a primit Premiul Nobel în 2012 „pentru descoperirea faptului că celulele mature pot fi reprogramate pentru a deveni pluripotente”, ceea ce înseamnă dezvoltarea celulelor iPS din celule adulte, diferenţiate. El a împărţit premiul cu John Gurdon, care este cu o generaţie mai în vârstă, şi care, în 1962, a transplantat un nucleu celular din intestinele unei broaşte într-o celulă de ou de broască. A ieşit o broască adevărată. Acest experiment a provocat scepticism şi chiar dezgust, după cum îmi amintesc foarte bine. Mai târziu, a devenit baza clonării oilor, pisicilor şi câinilor. Ştim cu toţii despre oaia clonată Dolly, cea mai faimoasă oaie din lume, o oaie fără tată. Ea a fost produsă de Ian Wilmut în Scoţia în 1996 prin izolarea unei celule din ugerul unei oi de şase ani. El a extras nucleul celulei şi l-a implantat într-un ovul denucleat. Aceasta a devenit oaia Dolly. Cu toate acestea, materialul ei genetic era deja vechi de şase ani. Prin urmare, telomerii de la capetele cromozomilor ei erau deja scurtaţi, ca la oile bătrâne; întinerirea a fost incompletă. Dolly a dezvoltat în curând boli legate de vârstă, cum ar fi artrita, şi a murit în 2003. Moartea ei s-a datorat infecţiei cu un virus ovin - un retrovirus strâns înrudit cu cel care a contribuit la generarea placentei umane, în urmă cu aproximativ 40 de milioane de ani (*Jaagsiekte Sheep Retrovirus*, JSRV). (Am fost surprins că acest virus mai există şi astăzi!). La urma urmei, Dolly a avut urmaşi. Ne-am fi putut foarte bine imagina că Ian Wilmut i-ar fi însoţit pe Yamanaka şi Gurdon la Stockholm. Rudolf Jaenisch de la Institutul Whitehead din Boston, un prieten din Hamburg de acum mulţi ani, ne-a ajutat să înţelegem reprogramarea celulelor **stem** embrionare, activitate pentru care a primit numeroase premii.

Celulele iPS fac inutilă izolarea celulelor ES umane. În prezent, celulele somatice adulte pot fi reprogramate în celule iPS. Multe îmbunătăţiri sunt în curs de cercetare.

Celulele **stem** se divid printr-un mecanism special, prin diviziune asimetrică, prin care o parte a celulei rămâne ataşată la o „nişă”, în timp ce cealaltă parte este suficient de expusă pentru a fi atinsă de factorii de creştere sau diferenţiere pentru a produce celule noi care sunt eliberate. Ne putem gândi la o bucată de gheaţă care se desprinde de un aisberg în Arctica. Celulele lăsate în urmă sunt caracterizate prin autoreînnoire şi pot suferi un număr nelimitat de diviziuni. Celulele **stem** eliberate pot fi induse să se diferenţieze în una dintre cele 200 de celule specializate ale organismului.

Abia recent oamenii au devenit conştienţi de faptul că celulele germinale sunt transmise pentru totdeauna şi par să aibă viaţă veşnică. La viermii *C. elegafis* acest lucru este în curs de investigare. Celulele germinale trebuie să aibă mecanisme de întinerire, dar devin mortale dacă animalele devin infertile prin mutaţii. Scopul este acum de a afla care sunt căile chimice care ar putea provoca întinerirea şi nemurirea.

Visurile privind aplicaţiile viitoare îi stimulează pe cercetători. Se speră la piese de schimb, noi valve cardiace, noi discuri pentru tratarea problemelor de spate, şolduri mai bune, creiere mai tinere sau piele nouă după arsuri - toate acestea pot fi generate din celule iPS. Pielea artificială poate fi acum dezvoltată deja cu pigmenţi - dar durează încă prea mult ca o victimă să îşi aştepte pielea nou crescută. Sistemul imunitar nu ar protesta împotriva „propriilor” celule şi nu este de aşteptat nicio respingere, deoarece pacientul însuşi va fi donatorul. În plus, donarea de celule de piele sau de păr nu sperie pe nimeni şi nimeni nu ar trebui să aştepte accidente rutiere şi decese pentru transplanturi de organe.

Cu toate acestea, înainte ca aceste metode să se fi maturizat suficient pentru a putea fi aplicate la oameni, se pot imagina aplicaţii mai simple. S-ar putea utiliza celule iPS de la pacienţi şi să le transformăm în condiţii de laborator în celule specializate, cum ar fi celule cerebrale, hepatice, cardiace sau tumorale şi să le folosim pentru a testa răspunsul lor la medicamente. S-ar putea determina dacă un anumit pacient poate tolera un anumit medicament şi dacă acesta l-ar putea ajuta.

Acest lucru poate dura câteva zile pentru experimentele de laborator, dar ar putea reduce riscurile potențiale și costul pentru medicamente scumpe, dintre care unele împotriva tumorilor costă sute de mii de dolari. Acesta este un aspect al viitoarei medicini personalizate. În SUA, aproximativ 50 000 de persoane mor în fiecare an ca urmare a tratamentelor inadecvate, în loc să fie vindecate. În Anglia, asigurătorii de sănătate solicită deja teste prealabile înainte de a subscrie tratamente extrem de costisitoare.

Ar mai fi doar un pas până la injectarea celulelor iPS direct în inima unui pacient, unde acestea ar putea fi transformate în celule musculare cardiace prin factori de diferențiere specifici, eventual furnizați de celulele vecine. Injectarea directă în inimă, fără trecerea îndelungată prin culturi de țesuturi, s-a dovedit deja un succes la șoareci. Țesutul cicatricial de după un atac de cord este un punct de interes pentru întinerire. Poate că o seringă cu factori de transcripție precum **c-Myc**, aplicată direct pe țesutul cicatricial și susținută de factori de diferențiere locali ar putea fi suficientă? Ar fi fantastic. Medicina regenerativă este plină de promisiuni. Cardiologia este o prioritate - principala cauză de deces în lumea occidentală. Dar va fi nevoie de timp.

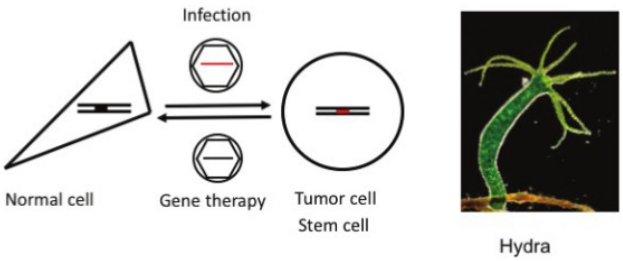
Împreună cu o companie americană, Neuronics, am analizat celulele *stem pluripotente* într-o placă Petri și am studiat efectul factorilor de diferențiere în activarea programelor specifice celulelor. Am fost capabili să recunoaștem neuronii și am văzut celule care băteau ca o inimă! Dar un leac pentru o tumoare era departe de a fi atins. Fondatorul companiei avea o tumoare pe creier și încerca să sprijine cercetarea pentru o nouă terapie. El a atribuit tumoarea sa utilizării excesive a unuia dintre primele telefoane mobile, când acestea abia intraseră pe piață. Îmi amintesc că urechea se încălzea în timpul utilizării - ceea ce stimula creșterea celulelor - posibil favorizând cancerul.

Îmi amintesc că, în anii '60, în trenurile germane au fost distribuite pliante care făceau publicitate „terapiilor cu celule proaspete”, iar zvonul a circulat că cancelarul nostru german - pe atunci foarte în vârstă - Konrad Adenauer, precum și Papa, erau tratați cu extracte de celule întineritoare, obținute din viței embrionari sau oi. Acest lucru corespundea poate mai mult unui tratament de „înlocuire a hormonilor” decât unei înlocuiri a celulelor **stem**, dacă hormonii bovin și uman sunt suficient de apropiați - ceea ce s-ar putea să fie cazul unora dintre ei. Acest tratament nu mai este permis, deoarece pot fi transmise boli.

Conform ziarelor recente, tratamentul cu celule **stem** umane a fost raportat ca fiind de succes în San Francisco. Cu toate acestea, s-a dovedit a fi o fraudă! Același tip de abatere s-a întâmplat și în Japonia. De ce au fost săvârșite două fraude la rând în aplicarea și cercetarea celulelor **stem** - când era clar că vor fi imediat descoperite, deoarece toată lumea va încerca să repete observația? Sunt falsificatorii fanatici sau sunt bolnavi? Acest lucru s-a mai întâmplat. Șoareci întregi au fost odată vopsiți fraudulos cu cerneală neagră, iar într-un alt caz au fost pictate pete pe autoradiograme cu o pensulă. Cercetătorii pot ajunge să vândă benzină - ca într-un caz pe care îl cunosc. Acesta era un tânăr *postdoc* care stătea lângă mine la cină în timpul unei conferințe științifice în SUA. Era eroul simpozionului; rezultatele sale decorau prima copertă a broșurii cu rezumate. Mi s-a părut anormal, mai mult bolnav decât un geniu. Și, într-adevăr, l-a băgat pe supervizorul său, un biochimist cunoscut, în mari probleme și a renunțat la știință. Odată mi-am petrecut cea mai mare parte a vacanței de Crăciun pe furiș în laborator, răsfoind caietul și protocoalele unui coleg, pentru a analiza niște date și a mă asigura că nu fuseseră manipulate. Din fericire, nimic nu era în neregulă. Dar acest lucru se întâmplă surprinzător de frecvent, chiar și în locuri atât de elitiste precum Universitatea Tehnică Federală, ETH, din Zurich. Manipulările computerizate sunt deosebit de greu de detectat. Nu aș mai fi în stare să investighez o posibilă fraudă în timpul sărbătorilor de Crăciun, pentru că nu știu cum să folosesc singur unele dintre programele informatice sofisticate! Am decis să nu mai fiu autorul senior corespondent al lucrărilor în care nu pot judeca eu însumi biostatistica și nu pot garanta corectitudinea fiecărui detaliu. Mă întreb dacă sunt singurul cercetător care se confruntă cu acest tip de problemă destul de nouă.

Noul cap al Hidrei

Ce este atât de interesant la Hydra? Hidra apare în legenda greacă, unde Hercule trebuia să taie capetele Hidrei ca una dintre cele zece sarcini - dar, de fiecare dată când făcea acest lucru, mai multe capete noi răsăreau.



Celulele normale sunt transformate în celule tumorale prin infecție virală, care este inversată prin terapie genică virală. Celulele tumorale și celulele ***stem*** *sunt înrudite, (proto)-oncogenele Myc fiind un factor, care poate provoca tumori cerebrale și conduce la noul cap al hidrei*.

Această legendă antică are ceva cunoștințe în spate. Hidra animală, un mic polip de apă dulce, poate fi tăiată în două și fiecare jumătate va crește din nou și o va înlocui pe cealaltă jumătate pierdută. Chiar dacă este trecută printr-o sită, fiecare dintre bucăți va crește într-o hidră completă, vie - un sistem autoorganizat. Hidra își poate regenera și o parte din celulele nervoase, chiar dacă acestea sunt mai primitive decât ale noastre. Cum pot tentaculele să se regenereze și să formeze un nou cap sau un nou picior? În prezent, suntem foarte interesați de înlocuirea sau regenerarea unor părți ale corpului nostru. Acesta este subiectul celulelor iPS și al regenerării țesuturilor sau organelor. Avem nevoie de piese de schimb noi. Doar ficatul pare să se descurce bine în ceea ce privește regenerarea și localizarea celulelor. „Homing" înseamnă că, dacă se injectează o celulă hepatică într-o venă a brațului, aceasta își va găsi drumul către ficat.

La MPI din Tubingen, Alfred Gierer și-a sărbătorit cea de-a 80-a aniversare. Obiectul său preferat de cercetare este hidra, lungă de doar câțiva milimetri și care se lipește adesea de pereții acvariului. Hydra datează de acum 500 de milioane de ani. Un „activator al capului", o neuropeptidă, ar juca un rol în generarea unui nou cap. Activatorii au o oarecare istorie la Tubingen, unde activatorul Spemann-Mangold a fost descoperit pentru prima dată la broaște. Gradienții factorilor de creștere au fost prevăzuți de Gierer și este posibil să o fi inspirat pe laureata Premiului Nobel de mai târziu, Christiane Nusslein-Volhard, o fostă vecină a biroului lui Gierer din Tubingen, să investigheze modul în care se formează un cap și o coadă la larvele de muște. Gradienții de factori, morfogenii, sunt cheia. Indicii pozitivi și negativi reglează diferențierea. Probabil că acest lucru se întâmplă și în cazul hidrei, dar este suficient? Poate că hydra nu devine niciodată „adultă", ci rămâne într-o stare embrionară și, prin urmare, poate regenera la nesfârșit părțile lipsă (speculația mea!). Atunci este posibil ca adulții umani să fi fost doar ghinioniști și să nu aibă nicio șansă de a regenera părțile lipsă.

Aș fi putut lucra la doctorat cu Alfred Gierer, dar nu am avut suficient curaj sau viziune și am ajuns alături, în departamentul de virusologie. Gierer mi-a examinat ulterior teza despre retrovirusuri. Elementele asemănătoare retrovirusurilor joacă un rol și în cazul hydra. Genomul hidrei a fost complet secvențiat de Jarrod A. Chapman *et al* în 2010, împreună cu Institutul Craig Venter din California, cu 70 de coautori și 20 de grupuri de cercetare. Rezultatul justifică includerea hidrei în această carte. În primul rând, titlul articolului este demn de menționat: „*Genomul dinamic al hidrei*". Genomul Hydrei este, de asemenea, în continuă schimbare, are loc un salt intens de gene. Aproximativ 57% din genomul hidrei este format din retroelemente, care urmează regula „*copy-and-paste*", necesitând o transcriptază inversă care să contribuie la extinderea genomului prin duplicări. Retroelementele nu numai că au fost active la hydra cu multe milioane de ani în urmă, dar sunt active și astăzi. Mai sunt și transpozonii ADN mai simpli, care efectuează „*cut-and-paste*" și reprezintă aproximativ 20% din hydra, activi și astăzi. Cititorul știe deja toate acestea! Nou pentru mine a fost faptul că se pot defini trei perioade în care genele de salt au fost deosebit de frecvente în

hydra. Este posibil ca acestea să fi corespuns cu anumite evenimente din istoria Pământului. Ce se întâmpla - erupții ale vulcanilor, ere glaciare, meteoriți? Apoi, dezvoltarea populației de hidre a trecut printr-un blocaj, multe hidre au murit, iar cele câteva rămase în urmă au transmis trăsături speciale progeniturilor lor. Genele saltătoare au refăcut genomul. Dimensiunea acestora a crescut de trei ori, ajungând în prezent la aproximativ un miliard de perechi de baze (o treime din dimensiunea genomului uman). De asemenea, s-a descoperit că hydra se afla în contact strâns cu o bacterie necunoscută anterior. Cercetătorii nu au putut scăpa de aceasta pentru secvențiere. Aceasta se află într-o relație simbiotică stabilă. Astfel, hydra poate fi similară în această privință cu viermele Elba menționat anterior. Bacteriile simbiotice ajută la digerarea hranei pentru gazdă. Se poate învăța de la hydra cum să crească un cap nou? Hydra nu dispune de cei patru factori de transcripție necesari pentru creșterea celulelor iPS, ci doar de unul dintre ei, Myc (mai precis c-Myc). Cu toate acestea, există patru proteine Myc diferite - ceea ce este distractiv pentru un specialist în Myc. Pot mai multe proteine Myc să ajute hidra să crească capete noi - este acesta secretul hidrei? Myc, pe de altă parte, este un indicator al tumorilor cerebrale umane, care supraproduc neuro- sau N-Myc de un factor de până la 10.000. Myc stimulează creșterea și contribuie la apariția celor mai agresive tumori cerebrale umane. Astfel, există doar o linie îngustă care separă un cap nou de un cap bolnav de moarte - ambele reglementate de Myc. Există și alte căi de semnalizare activate în hydra, cunoscute, de asemenea, din cercetarea cancerului, cum ar fi calea „Wnt", care joacă un rol în cancerul de sân la șoareci - destul de ciudat! Astfel de gene sunt peste tot, în hydra, la șoareci și la om - suntem toți înrudiți! (Wnt este și un oncogen, activ ca proto-oncogene în celulele **stem** umane; „wingless" și „integrated" sunt fuzionate cu „Wnt").

Încă nu putem citi în ADN modul în care hidra poate crește un cap nou, dar este posibil ca transcriptomele, transcriptele tuturor genelor active, să ne spună în curând. Există o altă proprietate unică la hydra: nu îmbătrânește, trăiește pentru totdeauna. Sunt celulele hydra în principal - sau toate - celule **stem**? O „genă Matusalem", o genă a vieții veșnice, a fost descoperită recent în hydra de către cercetătorii din Kiel. Aceasta este o variantă a factorului de transcripție Foxo3, care există și la viermele *C. elegans* și, mult mai important, la oamenii longevivi. Cel mai bătrân animal viu de pe planeta noastră ar avea 10.000 de ani. Astfel, trăiește de zece ori mai mult decât țestoasele, despre care mulți oameni cred că sunt cele mai vechi dintre animale - țestoasa lui Darwin tocmai a murit! Cu toate acestea, este un burete din adâncul mării, nu metabolizează prea mult, duce o viață foarte restrânsă și monotonă și este format din aproximativ trei tipuri de celule. Aceste celule trebuie să aibă ceva în comun cu celulele **stem**. Un astfel de stil de viață redus și plictisitor pare să fie compromisul pentru longevitate - este acest lucru adevărat în general și o predicție pentru noi?

La fel ca hidra, *planarii* au atras recent atenția pentru că și ei se pot regrupa din bucăți. Mai cunoscute sunt șopârlele, care își pot regenera coada. Genele implicate nu sunt încă cunoscute - ajută Myc? Pun pariu că da! Și re-creșterea dinților, așa cum pot face crocodilii și rechinii, ar fi, de asemenea, un proiect de cercetare interesant. Uneori, la oameni poate crește accidental un al treilea dinte. Oare acesta crește dintr-o celulă **stem** aflată la vârful rădăcinii dintelui, care ar putea fi pe cale să devină o tumoare și care, tocmai la timp, a luat o întorsătură pentru a deveni în schimb un dinte nou?

Un bebeluș a fost prezentat la televizor nu cu mult timp în urmă. Acesta își pierduse vârful unui deget și a fost tratat cu pulbere derivată din matricea extracelulară, o substanță care construiește contactele dintre celule. Medicii au fost foarte surprinși: vârful degetului a crescut din nou și chiar o unghie s-a reformat. Probabil că a apărut în același mod ca prima, prin gradienți de factori de creștere sau de diferențiere. Un jurnalist critic a întrebat dacă pulberea era esențială. Nu a primit un răspuns. Cu toate acestea, regenerarea degetului s-ar fi putut datora faptului că bebelușul era încă suficient de tânăr pentru a mai avea celule **stem** embrionare. Poate că cocktailul de patru factori de transcripție ar fi făcut o treabă chiar mai bună decât pulberea - sau era un factor prezent în pulbere? De asemenea, în studiile de terapie genică, copiii au avut rezultate mai bune decât adulții, la care genele terapeutice au fost dezactivate. Trebuie să aflăm despre programele de diferențiere și să le reactivăm, ca un posibil nou început pentru tratarea degetelor tăiate la adulți. Și avem nevoie de mai mult decât degete ca piese de schimb. Și am putea învăța, de asemenea, despre longevitate.

12. Virușii și viitorul

Biologia sintetică - câine sau pisică scoasă din eprubetă?

Spre surprinderea sa, în 2002, Eckard Wimmer din Stony Brook, Long Island, a ținut prima pagină a ziarelor. De ce? Reușise să sintetizeze complet genomul poliovirusului în laborator și își publicase lucrarea. Virusul sintetic era infecțios și capabil să se reproducă. Cu toate acestea, publicul nu a considerat acest lucru un progres științific, ci, laici și oameni de știință deopotrivă, au strigat în semn de protest împotriva acestuia. „O astfel de lucrare nu ar fi trebuit să fie publicată niciodată!” „Aceasta este o carte de bucate pentru bioterorism!” Într-adevăr, toți reactivii puteau fi obținuți din comerț, fără licență sau restricții. Chiar și secvența poliovirusului era disponibilă gratuit pe internet. Oricine putea acum să reproducă acest virus sintetic - și să îl distribuie ca armă biologică - astfel încât a existat o îngrijorare publică considerabilă. Nu, această sinteză nu este cu siguranță o sarcină trivială. Dar, uneori, există chiar și oameni de știință experți care se transformă în bioteroriști, dacă sunt nemulțumiți, dacă nu mai au bani de subvenții pentru cercetare, dacă sunt frustrați sau înnebunesc. Acesta a fost cazul odată, când un bioterorist a trimis spori de antrax în scrisori, prin poștă - era un specialist în antrax, care era furios.

Poliovirusul este mic, având o lungime de numai 7500 de nucleotide. Pentru a simplifica sinteza, Wimmer a sintetizat genomul viral sub formă de ADN, deoarece ADN-ul este mai stabil și ARN-ul dorit va fi apoi copiat automat din acesta în interiorul celulei. Între timp, chiar și extrem de periculosul coronavirus SARS izolat de la lilieci, care cuprinde 29 700 de nucleotide, a fost complet sintetizat. Acesta a fost ulterior „umanizat” prin introducerea de mutații. Acest izolat poate fi apoi transmis de la om la om - ceea ce este întotdeauna o temere. Poliovirusul este relativ inofensiv. Dar retrovirusul sintetic reconstituit Phoenix, care datează de acum 35 de milioane de ani? Virusurile gripale, de asemenea, pot fi produse sintetic, chiar mai rapid decât în culturi celulare sau prin reproducerea virusului în ouă, și pot suferi mutații în izolate mai periculoase, chiar dacă obiectivul este un virus gripal sintetic ca viitor vaccin. Pentru un vaccin, se încearcă „deoptimizarea codonului” secvenței virusului și introducerea a 27 de mutații, pentru a încetini replicarea virusului și a reduce riscurile. Vaccinul împotriva poliomielitei, care a avut un mare succes și a salvat vieți, conține o singură mutație, care poate muta înapoi în tipul sălbatic periculos. Chiar dacă omenirea aproape a scăpat de infecțiile cu poliovirus, acest vaccin este considerat prea periculos în conformitate cu standardele moderne. Astăzi, autoritățile nu l-ar aproba niciodată; vaccinul mort, mai puțin eficient, dar mai sigur, este în continuare preferat. Bill și Melinda Gates sprijină noul program de eradicare a poliovirusului. Vaccinurile cu virusuri sintetice, mutate artificial, nu se aplică doar împotriva poliomielitei, ci și împotriva gripei sau a altor virusuri. Abordarea se numește SAVE, Synthetic Attenuated Virus Engineering.

Biologia sintetică este încă în fază incipientă. Sinteza unei celule vii reale, cea mai mică minicelulă, este cea mai mare prioritate a vizionarului Craig Venter, care este întotdeauna cu un pic înaintea contemporanilor săi. El a început cu cea mai mică bacterie, *Mycoplasma (M.) genitalium*, și a redus treptat numărul total de gene pentru a identifica un set minim de gene esențiale. Din 482 de gene, a reușit să obțină cu o sută mai puține, doar 382. O treime din genomul redus nu are nicio funcție cunoscută; aproximativ 206 gene erau legate între specii. Aceste gene reglează replicarea și supraviețuirea. Venter și colegii săi au sintetizat ADN-ul *in vitro*; totuși, spre surprinderea tuturor, nu a apărut nicio bacterie vie. ADN-ul sintetic a trebuit să fie introdus într-o gazdă bacteriană „degustată” (golită). A fost o înșelătorie! Ce înota în burta bacteriană? Presa a mers atât de departe încât a făcut din acest lucru o viață artificială sau sintetică, numindu-l chiar „jocul lui Dumnezeu”. În mod greșit. Venter însuși a fost mai realist și și-a numit efortul „transformare”: să faci o pisică dintr-un câine. A fost denumit și transplant de genom. El a readus la viață o bacterie golită, asta a

fost tot. Cu toate acestea, nimeni nu se îndoise vreodată că acest lucru ar fi posibil. Totuși, ADN-ul unei bacterii este de aproximativ 100 de ori mai mare decât ADN-ul poliomielitei. Prin urmare, aceasta nu a fost o provocare tehnică banală. De asemenea, Venter a trebuit să găsească trucuri pentru a inactiva mecanismele de apărare din celula receptoare, endonuclele de restricție, care degradează ADN-ul străin. Venter descrie creatura sa drept „prima specie ai cărei părinți sunt computere". Iată că acum apare într-adevăr prima creatură sintetică cu adevărat vie: în 2016, Venter a reușit să genereze prima celulă bacteriană minimă dintr-un genom sintetic de 531 000 de perechi de baze cu 473 de gene (438 de gene codificatoare de proteine și 35 de gene ARN) care crește în medii de laborator. Arată urât, o aglomerare de bile de dimensiuni diferite, fără simetrie, fără auto-organizare? Autorii numesc aspectul său „polimorfic". Din nou, 149 dintre gene au o funcție necunoscută. Se replică în 3 ore, un pic mai lent decât organismul original, deci ceva important încă lipsește. Echipa a folosit o nouă metodologie, „*mutagenesis transposon*" și care va conduce la rezultate viitoare. Autorii subliniază că nu există o „celulă minimă" reală, deoarece aceasta depinde de mediu. Cu cât mediul de creștere este mai bogat, cu atât celula este mai simplă!

Odată realizată o celulă sintetică funcțională, se pot face cercetări și se pot studia căi de obținere a unor produse utile, cum ar fi medicamente sau substanțe chimice industriale cu numeroase aplicații. Ce este viața? Chimia va fi rezolvată în curând - rămân încă multe întrebări deschise.

Apropo, primul autor al acestei lucrări cutremurătoare a lui Craig Venter, Clyde Hutchison, are 77 de ani - ceea ce mă face să mă gândesc la pensionarea mea obligatorie la vârsta de 65 de ani.

În 2014, un grup de 60 de studenți s-au înscris în proiectul „Build a Genome" sub conducerea lui Jef Boeke la Universitatea din New York. În cadrul unui efort de șapte ani, aceștia au asamblat mici fragmente de ADN sintetic până la 1 000 de perechi de bază. În loc de o celulă bacteriană cu ADN sintetic, au folosit o celulă de drojdie și au inserat gene sintetice noi. Drojdia este un eucariot, mai apropiat de celulele umane și mult mai complicat decât bacteriile: adăpostește un nucleu cu 16 cromozomi, dintre care doar unul a fost produs artificial pentru a-l înlocui pe cel natural. Celula putea să crească, ceea ce dovedea că până atunci nu se făcuse nicio greșeală. Doar 3% din ADN-ul drojdiei era sintetic. În plus, au fost incluse aproximativ 500 de mutații, iar 50 000 de nucleotide din 317 000 au fost eliminate ca măsură de siguranță în cazul în care unele celule de drojdie sunt eliberate neintenționat în mediu. Mai întâi, totul a fost proiectat pe computer și apoi a fost generat prin sinteză - 10 ani de muncă grea. Astfel, drojdia a fost „umanizată"; genele umane nu sunt identice cu genele drojdiei, dar sunt suficient de asemănătoare pentru a se încadra în căile metabolice și de semnalizare. Acest lucru mi se pare surprinzător. Este o descoperire pentru studiile viitoare care înlocuiesc celulele umane. Acest lucru va fi util în viitor pentru depistarea medicamentelor împotriva bolilor umane. Există numeroase viziuni.

De asemenea, Venter dorește să utilizeze bacteriile sale personalizate pentru studii metabolice, depistarea medicamentelor și producerea de biogaz, o piatră de temelie pentru producția de energie pe bază de bacterii. El preconizează, de asemenea, aplicarea lor la producerea de vaccinuri sau produse terapeutice și la degradarea gunoiului. De asemenea, pentru producția de alimente.

Unele viziuni futuriste cuprind celule proiectate nu numai pentru detectare, ci și pentru producerea de noi compuși, cum ar fi *artemisinina* împotriva malariei. O nouă speranță este „editarea", modificarea genetică și vindecarea genelor defecte prin intermediul sistemului CRISPR/Cas9 derivat din fagi. Acest lucru ar putea ajuta la combaterea bacteriilor multirezistente - dar ar putea conduce, de asemenea, la primii pași către „copiii creați". Modificările genetice ale celulelor embrionare umane au început deja. Dar a sta departe de celulele germinale și de moștenire este încă o obligație foarte strictă.

Există deja întrerupătoare biologice sofisticate, care pot activa sau dezactiva reacții în funcție de stimuli precum lumina; acest subiect nu este suficient de futurist. În viitor, am putea înghiți nu pastile preformate, ci senzori care vor determina nevoile și vor „produce" medicamente, furnizând terapii la cerere, în funcție de cerințele pacientului. Insulina ar putea fi furnizată automat atunci când și în cantitățile necesare. Inginerii, medicii și cercetătorii evolutivi vor trebui să

colaboreze, deoarece noile concepte sunt multidisciplinare. Cel mai important este că acestea trebuie să fie compatibile cu natura reală. Natura a dezvoltat anumite echilibre de-a lungul a miliarde de ani și va contracara influențele artificiale necunoscute sau nefamiliare. Sunt în curs de elaborare noi legi privind brevetele, conform cărora blocurile biologice au „libertatea de a funcționa”, dar nu și metodele de construcție a acestora. Tendința este că genele naturale nu pot fi brevetate, în timp ce genele artificiale pot fi brevetate. Într-adevăr, Timothy Lu, biolog sintetic la MIT, construiește viruși sau fagi cu gene, mașini biologice, concepute pentru a distruge straturile bacteriene, biofilmele, care sunt de 500 de ori mai rezistente la tratament decât microbii care plutesc liberi. Acestea populează echipamentele spitalicești, de la catetere la țevi de apă. El vrea, de asemenea, să transfere fagii în bacterii sau celule pentru a produce substanțe. Poate că, într-o bună zi, injecțiile cu insulină prin ac hipodermic vor deveni astfel depășite, fiind înlocuite de alimentarea automată. Tim Lu a început, de asemenea, să moduleze *Bacteroides* din intestin pentru a simți și a răspunde la stimuli. El folosește bacteriile ca „hard discuri” (după cum spun jurnaliștii), memorii pentru stocarea informațiilor. Stimulii conduc la mutații, care pot fi stocate până la 12 zile și apoi citite și cuantificate. Ar putea ele într-o zi să semnaleze „nu mai mâncați”? Aceasta ar putea fi chiar o sarcină ușoară! Tim Lu proiectează „materiale vii care se construiesc singure” - aproape un fel de imprimantă 3D biologică! Și vizează bacteriile multidrog rezistente - o nevoie extrem de urgentă.

Vom înghiți senzori, nanoinstrumente, roboți, micromanipulatori și vom spera că le pot face pe toate - ce viziune! Amintiți-vă că virușii sunt senzori excelenți pentru stres, cum ar fi virusurile herpetice, care se strecoară prin fibrele nervoase și activează răspunsuri chimice cum ar fi bășicile la buze. Astfel, virușii pot face deja majoritatea acestor lucruri în cazuri speciale. Ei sunt buni inventatori și profesori pentru ca noi să îi copiem.

În urmă cu mai bine de 50 de ani, Richard Feynman, gânditor foarte original și laureat al Premiului Nobel, a prevăzut toate acestea. El a afirmat: „Ceea ce nu pot crea, nu înțeleg” - ceea ce îl va ține ocupat pe Craig Venter pentru mai mult timp. Marea viziune a lui Feynman a fost: „Înghite-l pe doctor”! Am ajuns aproape acolo?

Care a fost primul - virusul sau celula?

Această întrebare am ridicat-o în 2013 la Davos, Elveția, în timpul reuniunii anuale a ARN. Am vorbit cu colegi, cu mulți virusologi și cu pionieri în domeniul ARN, al evoluției chimice și așa mai departe. Toți au dat același răspuns, la fel ca aproape toate manualele, recenzorii articolelor mele din revistele internaționale și poate și cititorul. Toți au răspuns imediat: celulele au fost primele, deoarece virușii au nevoie de celule. Am fost dezamăgită de faptul că cercetătorii de top din domeniul ARN și al *ribozimelor* au susținut acest lucru, chiar dacă *ribozimele* sunt primele biomolecule active, care se pot replica, evolua, scinda și uni. *Ribozimele* sunt nucleul ribozomilor și, prin urmare, moleculele-cheie pentru sinteza proteinelor, iar circARN și, recent, piARN sunt principalii regulatori ai genelor.

Ribozimele sunt *viroizi*, iar viroizii sunt viruși. **Înseamnă că virușii au fost primii - sau cu mai multă modestie: au existat de la începutul vieții și până astăzi**. Eram înconjurați de alți oameni de știință și de tineri studenți, care ascultau curioși, destul de surprinși. M-am lăsat purtat de val, subliniind virușii gigantici, mulți dintre ei mai mari decât bacteriile, care pot face aproape la fel de mult ca celulele vii - nu chiar la fel de mult, dar sunt aproape! Ei pot găzdui alți viruși. Pot chiar „aproape” să vadă! Viruși mai mari decât multe bacterii și viruși ca gazde ale virușilor - un lucru nemaiîntâlnit până recent. Nu există o separare netă între viruși și celule. Despre ce discutăm, viruși sau celule? Elevii au fost surprinși; nu auziseră niciodată acest lucru. Apoi, pe planeta noastră există 10^{33} de virusuri, cele mai performante entități biologice de pe Pământ, cea mai mare populație biologică existentă. Nicio ființă vie nu este lipsită de viruși. Toate organismele conțin viruși, chiar și în genomul lor? Pun pariu că da! Așadar, virușii trebuie să fi fost acolo de la început; nicio infecție nu ar fi putut obține acest rezultat ulterior. „Speed-talk-ul” meu i-a convins pe ascultători sau pe Tom Cech? Virușii mai întâi? Nu știu dacă în cele din urmă au fost de acord.

Există mai multe argumente în favoarea „virușilor mai întâi”. Cele mai recente analize ale secvențelor arată că, deși unele gene virale au similitudini cu genele celulare, există mult mai multe gene virale decât gene celulare. Un lider în ceea ce privește rolul virușilor în evoluția vieții a fost Luis P. Villarreal, Center for Virus Research, Irvine, California. El descrie dominația virușilor pe planeta noastră drept „virosferă” și folosește cuvântul „replicator” pentru proto-ARN, prima biomoleculă ARN replicantă. Apoi, comparațiile de secvențe, efectuate de specialistul în bioinformatică Eugene V. Koonin, susțin acest concept. **Lumea virușilor - mai exact, lumea virușilor ARN - a fost prima, urmată de elementele retrovirale, iar apoi au apărut virușii ADN**. Descoperitorii virușilor gigantici au plasat virușii lor gigantici la baza arborelui vieții, dar acești viruși sunt mult prea mari pentru o origine și această discuție nu a fost general acceptată! Chiar și descoperitorul fagilor, Félix d'Herelle, a plasat fagii - intuitiv - la rădăcina arborelui vieții. Această evoluție ar putea fi denumită „de jos în sus”, de la simplu la complex, de la mic la mare sau „ipoteza virus-first”, care afirmă că virușii au fost primii care au populat lumea prebiotică. Principala dificultate a acestei idei constă în acceptarea faptului că primii viruși au putut trăi fără celule, în nișe, în „iazul mic și cald” al lui Darwin sau în niște compartimente cu componente anorganice și poate argilă drept catalizator. Era nevoie de energie, da, dar nu de sinteza proteinelor încă și nici de celulă, pentru că energia chimică putea face față!

Noi analize chimice confirmă faptul că cele trei elemente constitutive majore ale vieții, nucleotidele, aminoacizii și lipidele, ar putea fi sintetizate în „supa primordială” a lui Darwin, cu un aport de energie din mediul înconjurător. Chimistul John Sutherland, din Marea Britanie, poate produce într-o singură eprubetă toate cele trei elemente constitutive ale vieții pornind doar de la precursori simpli precum HCN, P, H2S, H20 și lumină UV. Aceasta ar fi putut fi originea vieții. Numai atunci când celulele tipice au intrat în scenă, virușii și-au putut schimba stilul de viață și au devenit paraziți intracelulari - o tendință evolutivă bine cunoscută, în funcție de condițiile de mediu. Ei au interferat cu concurenții lor pentru resursele celulare și au stabilit mecanisme primitive de apărare antivirală, imunitatea celulară. Este posibil chiar ca virușii să fi furnizat nucleul primelor celule eucariote.

Definiția unui virus a fost modificată și lărgită în comparație cu cea dată în manualele clasice de virusologie, în care virușii sunt paraziți și au nevoie de celule. În schimb, am inclus viroizii, poli-ADN-virusurile, ADN-ul plasmidic și chiar prionii ca fiind „viruși” sau cel puțin asemănători virusurilor. Apoi, virușii cuprind totul, de la numai ARN, la ARN/ADN, la ADN, cu sau fără proteine, la numai proteine - aceasta este propunerea mea. Deci, ce este un virus? O entitate care se poate replica, evolua și interacționa. Informația sa ar fi cel mai adesea „genetică”, dar chiar și informația structurală ar putea face acest lucru, de aceea nu includ cuvântul genetic în definiție. În prezent, virușii sunt în mare parte paraziți, dar în principal nu sunt. Mi se pare logic și simplu, dar nu toată lumea este de acord și nu vreau să fiu dogmatică în această privință. Acest scenariu reflectă o cronologie evolutivă. Apoi, virusurile, bacteriile și *arhaea*, combinații simbiotice au dus, în cele din urmă, la celule complexe de mamifere - și, foarte surprinzător, cea mai mare parte a genomurilor noastre s-a dovedit a fi derivată din lumea virușilor antici.

Un alt concept descrie cealaltă direcție: mai întâi celulele, apoi virușii: virușii au apărut din celule, structurile mari au devenit mici, „de sus în jos”. Acesta este conceptul cel mai frecvent acceptat, virușii ca „sateliți” care au apărut prin „degenerarea celulară” descrisă ca teoria „evadării”. Virusurile sunt părți ale celulelor; ele se despart și „fură” gene celulare. O bucată de ADN cu unele gene a fost învelită în proteine sau în membrana celulară ca protecție și a devenit un virus. Într-adevăr, unii dintre virușii din zilele noastre, în special marii viruși ADN ai mamiferelor, cum ar fi virusurile herpetice, par să susțină această teorie. Virusurile tumorale, de asemenea, își recrutează oncogenele din celulă. (De asemenea, le aduc înapoi în celulă, astfel încât informația genetică merge înainte și înapoi). Denumirea de „ipoteză a reducerii” descrie acest fenomen, prin care virușii apar din celule vii libere.

Una dintre probleme este că nu există suficiente gene: spațiul de secvențe al celulelor este mic, în timp ce cel al virușilor este gigantic. **Virușii „știu” mai mult decât ar fi putut învăța vreodată de la celule**. Există prea multe gene virale fără omologi celulari. Virusurile sunt variabile

și își pot crește complexitatea secvențelor în timpul replicării predispuse la erori. Totuși, acest lucru nu explică abundența astronomică de gene. În natură există mult mai multe informații decât transportă chiar și virușii și mult mai puține decât celulele.

O întrebare importantă este: de unde provine prima celulă? Prima și cea mai simplă minicelulă, care a fost produsă de C. Venter, este extrem de complicată, având câteva sute de gene și peste 200 000 de nucleotide. Este enorm! De unde provin toate aceste informații? Apărătorii „scenariului celulelor mai întâi" nu oferă nicio explicație. Virușii le oferă.

Freeman Dyson sugerează două origini ale vieții în cartea sa *The Origins of Life*, combinând metabolismul și informația genetică, mașini și programe, hardware și software - mai aproape de al doilea scenariu. Creșterea informațiilor codificate în gene o atribuie lui „*Schlatnperei*", un cuvânt german pentru dezordine. El vorbește germana, în special cuvinte din vocabularul copiilor, deoarece soția sa a venit din Berlin și el a trebuit să facă față unei gospodării dezordonate, care includea cinci fiice și un fiu. Ceea ce vrea să spună este: Natura nu este precisă. Ceea ce este „aproape bun" poate fi îmbunătățit pentru a deveni din ce în ce mai bun. Natura încearcă totul. Acest lucru crește diversitatea genetică.

Max Delbrück a folosit, de asemenea, cuvântul „neglijență": greșeli, imprecizie, încercare și eroare, ca bază pentru inovare. Uneori numim neglijența noastră „haos creativ". Manfred Eigen îl numește „cvasi-specii", în care sunt prezente mai multe specii în același timp, de la cele potrivite la cele nepotrivite. Poate că și „nor" ar fi un cuvânt bun. Progresul evoluează din greșeli. Chiar și Charles Darwin a subliniat importanța greșelilor.

Și aici intervine crezul meu: transcriptaza inversă predispusă la erori este unul dintre cei mai de succes „inventatori". Este „neglijentă"! Face „greșeli". Cu rate de mutație de 10 la 10 000 de nucleotide pe rundă de replicare, din cauza fidelității scăzute a transcriptazei inverse, aceasta conduce la noi informații din exterior - la fel ca ziarele. Și este abundentă, prezentă în aproape toate sistemele biologice, inclusiv în bacterii și *arhaea*, și în drojdie (nu - sau nu mai mult? - în unii viruși ADN sau fagi) și conduce spectacolul în plancton. Într-adevăr, acesta a fost un rezultat recent al experimentului de eșantionare „Tara Oceans": 13,5 % din proteinele planctonului sunt transcriptaze inverse (RT), față de numai 5 % în genomurile umane, dar și acolo RT este cea mai abundentă dintre toate proteinele. De ce există o cantitate atât de mare de această enzimă specifică în eucariotele unicelulare din oceane? Transcriptazele inverse abundente provin din numeroase retrotransponsoni. Sunt necesari atât de mulți retrotranspozoni în oceane pentru inovare și supraviețuire? Există schimbări de mediu atât de drastice care le selectează?

Într-un al treilea scenariu, virușii sunt responsabili pentru transferul orizontal de gene (HGT). Atunci genele și virusurile se deplasează orizontal și servesc la transferul de gene. Știm că există transfer orizontal de gene de la viruși la celule și de la celule la viruși, în ambele direcții. Aceasta ar corespunde mai multor linii orizontale paralele. Acesta nu poate fi începutul, ci trebuie să fi venit mai târziu.

Formal, o altă variantă este teoretic posibilă: virușii și celulele au apărut în mai multe linii verticale paralele, evoluând în paralel. Atunci ar fi existat mai multe origini. Patrick Forterre din Paris sugerează trei origini, celule care conțin ribozomi, pe care le numește „ribovirocelule", care produc proteine și viruși. Virușii au inventat ADN-ul în cele trei domenii ale vieții în mod independent. Cum au apărut celulele cu ARN?

A existat vreodată un virus „primar" sau „primordial", un „proto-virus", un singur virus ancestral ca origine a tuturor virușilor - similar cu „planta primară" a lui Johann W. Goethe? Această întrebare este adesea ridicată. Ar fi putut fi cel mai primitiv ARN sub forma unui viroid, dar viroizii nu au o secvență specifică, iar ARN-ul de numai 50 de nucleotide permite 4^{50} (sau 10^{30}) de posibilități, suma tuturor secvențelor posibile ca o quasispecie. Acesta nu a fost un virus primar real. Spațiul secvențelor, suma tuturor secvențelor posibile, descris drept „fondul genetic", nu a fost exploatat nici până în ziua de azi de suma tuturor sistemelor biologice de pe planeta noastră. Tocmai am aflat că ARN-ul poate fi produs cu ușurință într-o eprubetă, așa cum a arătat Sutherland. Dar acesta nu este un virus ARN inițial de tip „pre-proto" care conține o singură secvență.

O poziție extremă a fost asumată într-un articol din *Nature Reviews Microbiology* în 2009: „Zece motive pentru a exclude virușii din arborele vieții”. Acest articol, cu titlul său agresiv, a provocat zece contrareacții vehemente. Nici unul dintre cei zece autori nu a fost de acord cu articolul original.

Urmează apoteoza mea - personală - finală asupra virușilor. Cântăreții de orgă sunt familiarizați cu fuga care urmează preludiului din muzica lui Johann Sebastian Bach, care se încheie cu o suprapunere a tuturor vocilor și a volumului cu cel mai mare număr posibil de tuburi, *tutti*. Iată *tutti*-ul meu - un rezumat - despre viruși:

> *Virușii au existat ca entități de replicare, cum ar fi viroizii, încă de la început, ca primele biomolecule. Au încercat totul și au evoluat prin replicare combinatorie și autointeracțiuni, generând diversitate în calitate de cvasi-specii. Putem alinia toți virușii de astăzi și putem găsi majoritatea stadiilor de dezvoltare. Acest lucru este extrem de uimitor, deoarece aproape toate formele de viață și speciile intermediare au dispărut. Genomurile virușilor conțin mai multă informație decât toate celulele la un loc; structurile genomului virușilor sunt mai complexe decât la orice altă specie, acoperind totul - ARN și/sau ADN, simplu sau dublu catenar sau ambele, liniar, circular sau fragmentat, structurat, codificator, necodificator. În comparație cu o asemenea varietate de structuri ale genomului, ADN-ul nostru bicatenar are o configurație surprinzător de simplă. ADN-ul este o conservare stabilă a produselor de succes perpetuate de viruși ca de cei mai imaginativi experimentaliști. ADN-ul nu este un „produs final” stabil, deoarece elementele virusabile transpozabile garantează că evoluția nu se încheie niciodată. De asemenea, modurile de replicare ale virușilor sunt numeroase, la fel ca și reglarea lor. Numeroase mecanisme sau molecule au fost descoperite mai întâi la virusuri și apoi la celule, cum ar fi splicingul, transcriptaza inversă, foarfeca, frameshiftul etc. Virusurile pot îndeplini la fel de multe funcții ca sute de proteine din celulele umane, cum ar fi replicarea, scindarea, îmbinarea, evoluția, apărarea. Genomurile virale se întind pe mai mult de cinci ordine de mărime (aproximativ 10 până la 2,5 milioane de nucleotide), cu dimensiuni ale particulelor care variază de la bucăți de ARN neacoperite, de mărimea unei molecule, până la virusuri gigantice de dimensiunea unei bacterii, cu un număr de gene care variază de la zero la 2.500. „Genele zero” se referă la viroizi, care nu pot «încă» codifica pentru proteine și pot îndeplini multe funcții fără codul genetic, ceea ce sugerează că au existat înainte de evoluția codului genetic. Acestea au fost necesare pentru dezvoltarea proteinelor și a codului. Cealaltă extremă este Pandoravirus dulcis, cu de cinci ori mai multe gene decât sunt prezente în multe bacterii. Au fost menționate câteva virusuri chimerice curioase, unele ca relicve ciudate sau forme de tranziție și ca martori ai stadiilor intermediare sau de dezvoltare; acestea includ retrofagele sau retroviroidele foarte rare, precum și proteinele ciudate cu cozi de ARN „uitate”. Virusurile sunt motoarele evoluției, creatorii genomului nostru - constructorii corpului nostru.*
>
> *Virusurile și celulele învață unele de la altele, fac schimb de gene, le recombină - în ambele direcții, ele co-evoluează. În ultimii ani, am fost surprinși de mai multe ori de observația că nu există război în ecosisteme diverse, de la intestinul uman până la compoziția microbiomului oceanelor. Am auzit un raport despre expediția oceanică din 2016 a lui Eric Karsenti. El a fost surprins de coexistența pașnică în cadrul microbiomului din oceane - iar eu am fost surprins de faptul că 73 % din microbiomul oceanelor și al intestinelor umane, care include viruși și fagi, sunt înrudiți din punct de vedere funcțional și că cea mai abundentă proteină a fost transcriptaza inversă.*
>
> *Transcriptaza inversă predispusă la erori a retrovirușilor sau retroelementelor este probabil cel mai generos furnizor de informații noi. Dovezi recente susțin ideea că retroelementele sunt precursori retrovirali. Retroelementele pot ocupa 75% din genom la porumb și 50% la orez. Cu un înveliș, ele devin mobile și pot părăsi celula. Transcriptaza inversă și RNaza H sunt cele mai abundente proteine din lume și nu există aproape nicio*

diferență între structurile lor respective la retrovirusuri, drojdie, bacterii, plancton, plante, mamifere sau oameni.

O surpriză personală a fost faptul că am asistat la descoperirea transcriptazei inverse și la importanța acesteia până în prezent pe parcursul a 45 de ani și că cercetarea mea asupra enzimei de clivare RNase H m-a condus de la retrovirusuri la întreaga evoluție și la sistemele de apărare imunologică. Virușii construiesc apărarea antivirală. Retrovirusurile integrate, provirusurile ADN, sunt imediat disponibile ca gene celulare pentru apărarea antivirală.

Ambele utilizează aceleași seturi de instrumente. Componentele virale conduc la efecte antivirale, cum ar fi interferența ARN, silențierea, interferonul și imunoglobulinele, toate cu mecanisme foarte asemănătoare de scindare de către tipul RNase H. Retroelementele sunt motoare ale evoluției. Poate chiar nucleele eucariote au provenit de la viruși. Este posibil ca acestea să fi generat eucariotele. În sfârșit, viteza de replicare virală este de un milion de ori mai mare decât orice alt proces de replicare. Există atât de mulți viruși. Au foarte mult succes.

Deci, viruşii sunt vii? Aproape. Mai mult da decât nu! Nu există o graniță clară. Aici se încheie recitalul meu de orgă.

Acceleratori și încetinitori

Distribuția virușilor în diferite specii este ciudată: Virusurile ARN şi ADN sunt distribuite inegal, în plante predomină virusurile ARN (în principal monocatenare), iar în lumea bacteriană a fagilor aproape toate conțin ADN bicatenar, similar cu virusurile gigant din alge sau cu virusurile ADN din archaea. Trebuie admise unele excepții de la aceste „reguli”.

Oamenii au multe tipuri diferite de virusuri. De ce plantele au virusuri ARN şi fagii au virusuri ADN? Cum apar astfel de preferințe, la gazde sau la viruși? Nimeni nu mi-a putut explica acest lucru, iar manualele de virologie nici măcar nu discută această problemă. Există un poster colorat care prezintă taxonomia virușilor şi care a fost publicat de Comitetul internațional pentru taxonomia virușilor (ICTV). Acesta prezintă o elipsă cu segmente pentru gazde și virușii lor și reprezintă o decorațiune foarte frumoasă pe ușile aproape tuturor institutelor de virologie din lume. Am sunat producătorul pentru a afla care a fost baza organizării afișului - „gust și spațiu” a fost răspunsul, gustul personal al artistului, frumusețea, estetica, nu știința.

Poate că aceasta este o explicație: dacă ARN-ul a apărut primul pe planeta noastră şi apoi a apărut ADN-ul, atunci virușii ADN trebuie să fi depășit lumea ARN. Este posibil ca virusurile ADN să fi fost inițial virusuri ARN şi apoi să fi devenit virusuri ADN, lăsând în urmă lumea ARN anterioară. Virusurile ARN sunt „progresorii lenți”, iar virusurile ADN sunt „alergătorii rapizi”. Există vreo dovadă în acest sens? Poate că da: viteza de replicare, timpul de dublare al virușilor ADN şi al gazdelor lor. Într-adevăr, bacteriile şi fagii lor ADN se replică în aproximativ 20 de minute sau ore, în funcție de nutrienți şi de condițiile de creștere. Plantele, dimpotrivă, pot avea nevoie de până la 3 500 de ani pentru a se dubla (precum copacii mamut din SUA) sau chiar mai mult (precum gingko sau molidul norvegian, care ajung la vârste de 9 500 de ani). Virusurile plantelor sunt predominant virusuri ARN. Acestea pot persista în copaci, replicându-se lent fără a-și părăsi vreodată gazda. Timpul de dublare al gazdelor, numărul de generații ale bacteriilor în comparație cu plantele poate fi de până la un milion de ori mai mare. Creșterea bacteriilor şi a virușilor lor este reflectată de câteva cifre: pe planeta noastră există 10^{30} de bacterii şi 10^{33} de fagi, toate având în principal genom ADN. Nimic nu are mai mult succes în lumea noastră biologică decât virusurile ADN şi bacteriile lor în oceane, în sol, în intestinele noastre, în ecosistemul corpului uman, în toate ecosistemele în general. Chiar şi în genele noastre! Virusurile gigant care infectează algele se încadrează, de asemenea, în acest model propus bazat pe runde de replicare. Algele sunt plante, deci ar trebui să aibă în principal virusuri ARN, dar multe alge sunt organisme unicelulare care cresc rapid şi ajung la un număr foarte mare, astfel încât, până la urmă, este de așteptat ca

virusurile ADN să câștige datorită vitezei lor de reproducere. Planctonul unicelular (nanoplanctonul) se poate diviza rapid și, în consecință, adăpostește viruși giganți cu ADN dublu catenar. Astfel, numitorul comun pentru explicarea dominației virușilor ARN și ADN în diferite specii pare să fie viteza de replicare și numărul de diviziuni. ARN-ul a fost primul și, cu cât treceau mai multe generații, cu atât mai mari erau șansele de a deveni ADN - progres în evoluție!

Noi, ca mamifere, ne situăm undeva la mijloc între cele două extreme. Avem atât viruși ARN, cât și ADN. Aceasta este ipoteza mea.

Există o altă propunere pentru a explica de ce plantele nu au dezvoltat virusuri ADN, ci mai ales virusuri ARN. Acestea nu pot migra cu ușurință de la o celulă la alta, deoarece ADN-ul este prea mare și rigid. Sistemul de transport din plante nu ar permite trecerea (prin mici conexiuni, plasmodesmele). Acest lucru a fost sugerat de Eugene Koonin - și nu am verificat diametrul. Dar, nu ar fi putut avea loc un fel de adaptare, viruși mai mici sau vase mai late în plante? Atunci s-ar fi putut rezolva.

S-ar putea găsi mai multe dovezi în sprijinul afirmației conform căreia nu numai virusurile plantelor, ci și plantele însele, par să se dezvolte lent. Ele au încă transpozoni ADN activi de tip „taie și lipește”, care există în principal la plante, în timp ce nu mai există la organismele superioare. La plante precum porumbul sau orezul, 85-90% din gene sunt gene de salt active. Acest lucru este valabil și pentru lalele. Acestea sunt, totuși, puțin excepționale din cauza înmulțirii lor intense, care ar putea fi la originea genomurilor lor extrem de mari, de zece ori mai mari decât genomul uman; este un paradox faptul că mărimea genomului nu este corelată cu complexitatea. Cu toate acestea, plantele nu sunt deosebit de eficiente sau rapide în adaptarea la noile condiții de mediu prin stilul lor de viață. Plantele nu se deplasează pentru a prelua informații noi; în plus, virusurile lor nu sunt foarte active. În majoritatea cazurilor, aceștia nu pot forma particule și nu sunt foarte mobili. În majoritatea cazurilor, sunt viruși cronici, persistenți și nu se replică activ. Și nici măcar stresul nu poate activa virușii ascunși. Prin urmare, transpozonii ADN care generează două tăieturi pot fi avantajoși în plante pentru a crea informații noi. Retrotranspozonii conduc la o singură tăietură în ADN, sunt predominanți în genomul nostru, dar sunt prezenți într-o mare măsură și în plante. Frecvența retro- și a transpozonilor ADN nu este încă foarte clară, este întotdeauna descrisă în intervale largi și poate varia.

Când are loc saltul transpozonilor sau retrotranspozonilor ADN?

La om, saltul transpozonilor ADN s-a oprit în urmă cu aproximativ 35 de milioane de ani. În genomul nostru, doar 3% provin din transpozoane ADN, și asta a fost cu mult timp în urmă. Avem retrotranspozoni activi, iar unii sunt încă activi - predominant în timpul embriogenezei umane - putând duce la apariția cancerului sau a geniilor. Între 20 și 200 de oameni întâlnesc o retrotranspoziție în celulele lor germinale sau embrionare într-o viață. Mai frecvent, aceasta apare în celulele canceroase sau în celulele creierului.

Virușii care conțin ADN din bacterii sau alge sunt, conform conceptului prezentat aici, cei mai rapizi în evoluție, iar virușii ARN împreună cu plantele sunt cei mai lenți. Virusurile umane se situează undeva între acestea, cu un timp mediu de dublare a activității umane de aproximativ 30 de ani între cele două extreme ale virusurilor bacteriene și ale virusurilor vegetale. De la începutul calendarului creștin au trecut aproximativ cincizeci de generații umane. O rundă de replicare la om corespunde la aproximativ un milion de dublări ale bacteriilor. În comparație cu virusul uman „mediu”, care variază de la virusul hepatitei delta, asemănător viroidului vegetal cu ARN, până la virușii mari cu ADN dublu-catenar, cum ar fi poxvirusurile, fagii au progresat în lumea ADN și probabil au lăsat lumea în urmă. Cu multe molecule de ARN în poziții-cheie în metabolismul și replicarea noastră, ne aflăm undeva între lumea ARN și lumea ADN. ARN-ul este încă surprinzător de important în procesele elementare din lumea ADN-ului, de exemplu ca starter pentru replicarea ADN-ului, ca loc de sinteză a proteinelor sau ca rezervă de siguranță în reglarea genelor. Cu toate acestea, cu cât ADN-ul și proteinele au apărut mai mult, cu atât dezvoltarea noastră a progresat mai rapid. *Splicarea* ARN-ului poate fi realizată în mod autonom, numai de către ARNnc - dar la om sunt necesare 100 de proteine pentru aceasta. Cu toate acestea, spliceozomii umani sunt mai rapizi

și pot îndeplini multe și mai diverse funcții speciale, de exemplu în timpul dezvoltării embrionare sau al reglării genelor.

ARN-ul reglator cuprinde ribozime/viroizi/ARNcirc /piwiARN, care sunt toate înrudite din punct de vedere funcțional și structural și ale căror proprietăți au rămas aproape neschimbate de la începutul lumii ARN până în prezent în toate celulele noastre - este un lucru cu adevărat surprinzător. Structura este atât de robustă. Poate că supa primordială din lumea timpurie a fost cel mai periculos mediu și, prin urmare, a generat acest tip de moleculă - cea mai adaptată pentru totdeauna!

Sidney Altman, laureat al premiului Nobel, care împreună cu Tom Cech a descoperit ARN-ul catalitic (ribozima), protestează împotriva dominației proteinelor în conceptul actual de viață și subliniază cu tărie importanța ARN-ului. El definește lumea noastră ca fiind o lume „ARN-proteină", care este definită mai puțin de ADN decât de ARN și proteine. **ADN-ul este memoria**, păstrătorul - dar nu uitați, ADN-ul poate sări, provocând inovații; acest lucru trebuie să fie luat în considerare.

Monștri în eprubetă

Două procese de dezvoltare extreme sunt surprinzătoare: pentru bacterii și fagi motto-ul este: „mici, multe, rapide, simple", iar pentru mamifere și oameni: „mari, puține, lente, complicate". De ce au apărut astfel de diferențe - unii rămân mici, iar ceilalți devin mari? Sunt microorganismele, fagii, virușii sau bacteriile un fel de optim, atât de reușite în replicare încât nu are loc nicio creștere a complexității? Cum și de ce am apărut noi, oamenii complicați? De ce nu suntem încă la fel de mici ca bacteriile și fagii? Iată răspunsul meu speculativ: În timpul evoluției există două forțe, tendința de creștere a complexității și o altă tendință, opusă, de scădere a complexității. Ce decide care dintre ele câștigă întâietate? Am căutat un răspuns la această întrebare și în cele din urmă am ajuns la concluzia: mediul.

Există chiar experimente care susțin acest lucru: dacă se permite ARN-ului și enzimei de replicare a fagului „Qbeta" să se înmulțească într-o eprubetă, atunci ceea ce se întâmplă depinde de condițiile de creștere. În condiții de lux, fagii vor deveni mai mici, vor renunța la o parte din genele lor și se vor replica din ce în ce mai repede. Cum? Ei încorporează într-un mod neglijent nucleotide incorecte, alese din rezerva bogată, și acumulează greșeli. Unele gene mor din cauza unei rate prea ridicate a erorilor. Aceasta este catastrofa erorilor descrisă de Manfred Eigen. Qbeta devine „minimalizată". Desigur, numărul de gene nu este redus la zero, ci la un minim, cel mai mic număr care este suficient pentru replicare. Ceea ce crește mai repede și se înmulțește, și devine continuu mai mic, este așa-numitul „monstru al lui Spiegelman". După câteva sute de runde de replicare în eprubetă, monstrul se micșorase de la aproximativ 4.500 de nucleotide la aproximativ 200 - devenise un pitic! Cel mai incredibil este faptul că în timpul acestui proces ARN-ul a devenit ARN necodificator. Nu existau ribozomi care să citească un cod, astfel încât capacitatea de codificare a tripletelor s-a pierdut. Evoluția, de la începuturi, a mers pe dos, în doar câteva zile. Cu ARN-ul necodificator, totul a început. Surprinzător. Replicarea și evoluția fagului Qbeta în eprubetă a fost realizată pentru prima dată de Sol Spiegelman în New York, în urmă cu aproximativ 50 de ani. Manfred Eigen, din Gottingen, a dus experimentul mai departe și l-a simplificat prin omiterea ARN-ului și a enzimei de replicare, replicaza, și a suplimentat eprubeta doar cu nucleotide. După ceva timp, ARN s-a format de la sine, s-a replicat și a evoluat; nucleotidele s-au asamblat și au format un lanț de ARN. Din haos, a apărut prima moleculă de ARN. Monstrul lui Spiegelman s-a creat singur. Acestea sunt două experimente ingenioase și spectaculoase: Scăderea și creșterea complexității. Pentru aceste experimente, condițiile sunt de o importanță centrală. Numai în condiții paradisiace de creștere este posibilă reducerea genelor. Creșterea s-a accelerat și mai mult, cu cât au fost eliminate mai multe gene. „Micul este rapid". Dacă extrapolăm acest concept la cealaltă extremă, „complexitatea este lentă", atunci vom ajunge la cel mai complex sistem - oamenii - ca fiind cealaltă extremă. „Nu mai există Paradis", ni se spune în Biblie! Oamenii au răspuns la condițiile dificile de creștere și de mediu printr-o complexitate sporită. „Marele este lent". Foametea forțează

indivizii să învețe noi trucuri, să preia noi gene, să se specializeze, pentru a garanta supraviețuirea: „Necesitatea este mama invenției”. Știm că *archaea* sunt supraviețuitori foarte inventivi, care se adaptează la noile condiții de mediu; cu toate acestea, ei trebuie să dezvolte noi căi, ceea ce necesită timp. Așadar, sunt mici și lente!

Aici îmi iau libertatea de a introduce o mică anecdotă: Spiegelman, care din păcate a murit la o vârstă fragedă, a făcut prezentări spectaculoase la reuniunile din Cold Spring Harbor în urmă cu aproximativ 40 de ani. El a fost prezentat de președintele Charles Weissmann, prietenul său din Zurich, ambii specialiști în fagii Qbeta. Weissmann a început cu una dintre glumele sale celebre: un rabin din Varșovia și-a prezentat un coleg rabin din Lodz lăudându-i înțelepciunea, educația și generozitatea, moment în care vizitatorul i-a atins mâneca și i-a șoptit la ureche „Nu uita de modestie”. Prin această aluzie, Weissmann îi spunea prietenului său Spiegelman să nu fie lipsit de modestie - și, iute la minte cum era, Spiegelman i-a răspuns „La fel și ție”. Se puteau întrece o seară întreagă pentru a vedea cine știe mai multe glume - am fost martor la asta în calitate de tânăr student și am fost surprins cât de competitivi sunt oamenii de știință chiar și în timpul unei petreceri! Weissmann era sigur că va câștiga - ceea ce a și făcut. Și-a amintit acest lucru și mi-a relatat din nou gluma cu rabinul într-un e-mail recent, 50 de ani mai târziu!

„Modestia” lui Spiegelman s-a manifestat într-o lucrare din revista PNAS, în care a încercat să demonstreze că retrovirusurile pot transmite cancerul prin laptele matern - a «trișat» puțin, prezentând grafice cu unități de «10 contoare pe minut» în loc de convenția universal acceptată «cpm» (1 contor pe minut) - sperând că nimeni nu va observa că acest lucru făcea ca rezultatul său să pară de zece ori mai bun decât era. Oricum, rezultatul său era greșit. Atât despre caracterizarea a doi oameni de știință foarte distinși și creativi.

Scrierea despre scăderea complexității sistemelor în condiții de aprovizionare abundentă îmi amintește de cele mai recente date privind microbiomul din intestinele noastre, unde s-au făcut observații similare în legătură cu obezitatea. Alimentația bogată duce exact la același fenomen, reducerea complexității microbiene: numărul genelor scade. În schimb, o alimentație redusă, o dietă restricționată, conduce la o complexitate microbiană ridicată. Această complexitate, numărul de gene, este acum aproape o măsură a microbiomului sănătos. Un trib izolat de africani nativi a evidențiat o diversitate microbiană intestinală neașteptat de mare - dar, de asemenea, aveau o lipsă de hrană și trebuiau să aibă o dietă foarte variată. Cum? Pierderea de complexitate este reglată de viruși! Acestea ies din integrare în timpul obezității prin pierderea represorilor și lizează celulele. De asemenea, în oceane, densitatea populației locale de virusuri este corelată cu o diversitate ridicată, poate din cauza aprovizionării cu alimente rare?

Să revenim la ratele de replicare: oamenii par să se reproducă destul de bine, ajungând la o populație mondială de aproximativ 7,4 miliarde în 2016. Totuși, acesta este un număr foarte mic în comparație cu numărul astronomic de viruși și bacterii. Microorganismele vor câștiga cursa pentru supraviețuire și vor continua să existe atunci când oamenii vor dispărea. Nimic nu este mai eficient în lumea biologică decât virușii și bacteriile - o poveste de succes a virușilor.

Reducerea sau obținerea de gene se realizează adesea prin simbioze. Virușii giganți care cresc în vase de reacție prezintă o pierdere surprinzător de rapidă a genelor - poate un sistem model interesant pentru reducerea genelor într-un mediu de creștere bogat? Simplificările duc adesea la specializări și la performanțe maxime. Un exemplu familiar și proeminent este oferit de mitocondriile noastre, care s-au specializat în producția de energie a celulei, centrala electrică, după delegarea a 90% din genele lor către nucleul celular. Sau gândiți-vă la genii, care sunt foarte specializate, dar eșuează adesea în viața de zi cu zi.

Cât de mari putem crește? Care este extrema opusă celei mai mici celule vii - cea mai mare celulă sau organism? Există doar speculații cu privire la factorii care limitează dimensiunea. *Amoebele* sunt printre cele mai mari celule. Există limite precum distanța pe care trebuie să o parcurgă moleculele care transportă semnale, stabilitatea oaselor și funcția lor de schelet, designul, geometria, forma versus funcția și dușmanii naturali. Galileo Galilei a speculat în faimoasa sa carte *Dialoguri*, pe care a scris-o în arest la domiciliu în 1638, cu privire la ceea ce pune limite formei și mărimii - „gravitația” a fost răspunsul său. Animalele mai mari au nevoie de oase relativ mai

groase. Copacii ar crește mult mai înalți dacă gravitația ar fi mai scăzută. Pe Marte, gravitația este o treime din cea de pe Pământ, deci ar permite copaci sau animale mai mari? Masa crește după o lege a puterii cubice, iar înălțimea după o lege a pătratului. Prin urmare, în cele din urmă, greutatea celor mai mari animale le-ar rupe picioarele și s-ar prăbuși. A calculat cineva acest lucru pentru oameni? De ce nu s-ar fi putut dezvolta oase mai puternice prin evoluție? Oasele dinozaurilor erau mai puternice? Aceasta este o întrebare serioasă, dar doar una din multe altele.

Formarea de compartimente este un element important pentru creștere și ar putea depăși unele dintre aceste limite. Mărimea a fost înlocuită în timpul evoluției de pluricelularitate. Noua mea valiză mare are multe compartimente, iar eu folosesc și pungi pentru a organiza haosul. Sunt amoebele cele mai mari celule? Se pare că da - și, în același timp, ele adăpostesc cei mai mari viruși pe care îi cunoaștem. Este evident? Iar acești viruși uriași găzduiesc la rândul lor viruși mai mici! Care sunt cele mai mici și cele mai mari ființe vii - bacteriile, nano-planctonul și dinozaurii? Elefanții au devenit mai mici pe insula Sicilia atunci când hrana a devenit mai rară din cauza creșterii nivelului Mării Mediterane. Se poate inversa această situație? Mai multă hrană face animalele mai mari, după cum se poate concluziona din cel mai mare dinozaur găsit vreodată, expus acum la Berlin, de mărimea a 14 elefanți mari! Da, într-adevăr, există această teorie conform căreia dinozaurii au devenit atât de mari pentru că exploatau foarte bine hrana. Apoi, este posibil ca mărimea lor să fi fost determinată și de genetică. Capetele lor nu erau atât de grele, ceea ce le permitea să ajungă sus. Aceasta nu este speculația mea, ci o teorie serioasă. Adevărat? Girafele sunt și ele mari!

Există o dimensiune nelimitată cu suficientă hrană? Oamenii au crescut în câteva decenii cu aproximativ 10 cm. Care sunt factorii determinanți pentru mărimea noastră? Date recente de la Universitatea din Zurich sugerează că creșterea noastră în înălțime încetinește și se transformă în exces de greutate, așa cum s-a testat la recruți. Absența genelor săritoare limitează creșterea, așa cum a fost sugerat de o teorie recentă. Aceasta înseamnă lipsă de inovație și adaptare lentă. Două forțe se contracarează reciproc pentru optimizare: prea multă precizie nu este suficient de inovatoare, dar neglijența sau prea multe greșeli duc la o funcționare defectuoasă. Există două extreme, cu un mijloc de aur între ele: Prea multe erori vor face reproducerea prea imprecisă, cu rezultat fatal, iar prea multă fidelitate va fi prea rigidă, nu va permite suficientă inovație și va provoca moartea din cauza lipsei de adaptare. Activitatea transpozonilor cu gene săritoare este influențată de epigenetică, de factorii de mediu, chiar și de alimentație. Astfel, în condiții limită de creștere, putem activa transpozoni și inventa strategii de supraviețuire. Acesta este un prognostic bun și promițător și ar trebui să contribuie la atenuarea temerilor legate de viitor. Alte limite ale creșterii sunt previzibile mai precis: vârsta maximă a oamenilor este de 120 de ani, iar populația mondială maximă este de 12 miliarde. Cine știe?

Sfârșitul dinozaurilor a venit prin meteoritul Yucatan, un alt tip de catastrofă. Doar animalele mici au supraviețuit. Aha - marele este riscant. Noi suntem mari!

Noroc până acum - dar cum rămâne cu sfârșitul lumii?

Cine face predicții despre viitor? Biserica? Poate politicienii? Atunci organizația spațială americană NASA cu siguranță o face! NASA a luat inițiativa și a organizat - încă din 1982 - un congres despre evenimentele periculoase care amenință lumea noastră prin intermediul planetelor și asteroizilor și despre modul în care am putea să ne apărăm. Aproape nimeni nu a observat acest lucru sau nu l-a luat în serios. Calculele au arătat că suntem înconjurați de o jumătate de milion de asteroizi, dintre care 8 000 se află în apropiere periculoasă de Pământ și 70 ne amenință în fiecare lună - Obiectele Apropiate de Pământ, NEO. Majoritatea asteroizilor au un diametru de numai 10-100 m. În 1908, un meteorit cu diametrul de 40 m a explodat chiar în afara Pământului și a distrus prin unda de presiune o zonă cu diametrul de 40 km, inclusiv 80 de milioane de copaci, în Siberia. În 1913, un meteorit a rănit aproximativ 120 de persoane în Timbuktu. Un asteroid a lovit Rusia la 15 februarie 2013; acesta avea un diametru de 18 m și o viteză de 70 000 km pe oră. A explodat la 20 km deasupra Pământului. Doar câteva ferestre s-au spart. Astronauții au detectat recent un crater

cu diametrul de 30 km în Africa de Sud, care nu fusese observat până atunci. NASA este îngrijorată de faptul că o planetă se apropie de Pământ, deoarece nu vom afla despre ea decât la scurt timp, cu zece ani înainte de coliziune. Atunci va trebui să ne grăbim pentru a ne salva planeta.

Există câteva scenarii cu privire la viitorul nostru. Am putea încerca să parcăm Pământul în altă parte pentru a evita planetele care ne amenință. Cu 10^{15} tone de explozibili, Pământul ar putea fi mutat ca o navă spațială; s-ar putea schimba orbita Pământului cu 500 000 km, iar un meteorit ne-ar rata atunci. S-ar putea să avem deja suficiente bombe atomice pentru a face acest lucru. Astrofizicianul elveţian Fritz Zwicky a avut viziunea, în urmă cu 50 de ani, de a deplasa întregul nostru sistem solar cu ajutorul bombelor. Freeman Dyson, de asemenea, a elaborat un plan pentru o navă spațială pe care a numit-o *Orion*, la fel de mare ca un vapor oceanic și care să găzduiască sute de oameni.

Cât de serios poate fi luat acest lucru dacă astfel de genii fac declarații în acest sens? La urma urmei, Dyson a făcut calculele pentru electrodinamica cuantică (QED), care i-au ajutat pe alții să obțină Premiul Nobel. Acum, președintele Obama vrea să construiască un *Orion*, deși Dyson insistă că acesta nu seamănă cu cel proiectat de el. Iar Zwicky a descoperit sute de Supernove necunoscute și a calculat că există un deficit de materie - care încă lipsește, materia întunecată. Un astrofizician din Zurich, Ben Moore, sugerează că ar trebui să migrăm către o altă planetă. Nu cred o iotă din ce spune, dar poate că se antrenează deja pentru această mutare, organizând „parada iubirii” pe străzile din Zurich.

Fostul astronaut NASA Ed Lu a creat o fundație numită B16 (care amintește de Micul Prinț al lui Antoine de Saint-Exupery) ca sistem de detectare timpurie a asteroizilor. „Astropyhs” cu diametrul de 270 m, va lovi Pământul în 2020. Recent, un meteorit cu diametrul de 15 km a ratat de puțin Pământul - ar fi fost mai rău decât meteoritul cu diametrul de 10 km care a lovit Yucatanul acum 65 de milioane de ani și a distrus aproximativ 75% sau mai mult din toate speciile vii. Acest lucru nu a dus la dispariția tuturor viețuitoarelor, deoarece animalele mici au supraviețuit - și, în cele din urmă, noi ne-am dezvoltat din ele. Au existat cinci extincții în masă, numite „Cele cinci mari”, care au început în urmă cu 540 de milioane de ani și au fost cauzate de erupția supererupțivă a vulcanilor. Cea mai „recentă” a fost acum 71.000 de ani, catastrofa Toba din Indonezia. Conform unor teorii, omenirea a trecut printr-un blocaj, iar cele câteva mii de supraviețuitori au condus la o populație indiană destul de omogenă. De mai multe ori, oamenii abia au supraviețuit.

Există un proiect de cercetare în desfășurare pentru a afla cum ar putea dispărea viața pe Pământ. Lacul Verde de lângă New York este unul dintre modele - numele este pur sarcasm. Acolo nu mai există viață, nu mai există oxigen, este un bulion toxic împuțit, pe care oamenii se pot apropia să îl analizeze doar dacă poartă salopete de protecție. Lipsa oxigenului a ucis peștii din lacurile fostei Germanii de Est, cu pești albi cu aspect înspăimântător plutind cu burta în sus. Cu toate acestea, în mod surprinzător, regenerarea acestor lacuri a durat doar cinci ani. Aeratoarele extrem de lente au fost suficiente pentru a regenera apa prin amestecare și aerare. Lacul Zurich a fost regenerat în același mod. Mișcările oceanelor noastre au fost demonstrate de un experiment extrem de neobișnuit: O navă container s-a spart în 1992 în Oceanul Pacific și a eliberat 26.000 de rațe galbene din plastic, jucării pentru copii din China. Acestea au apărut șapte luni mai târziu, la 3.500 km distanță, în Hawaii, în Arctica, în gheața în derivă, și lângă Europa de Est. Nimeni nu s-ar fi gândit la un experiment atât de amuzant. A fost nu numai foarte informativ, ci și ieftin. Mișcările oceanelor sunt importante. Curenții de apă fac obiectul unor cercetări intense, pentru a înregistra și a prezice schimbările climatice - cum va fi Europa fără curentul Golfului? Poate că jucăriile pot ajuta la urmărirea schimbărilor cauzate de El Nino sau de curentul Humboldt? Într-adevăr, un astfel de experiment a fost inițiat recent, cu 1 500 de bile negre distribuite pe toate oceanele, denumite „Drift Bodies” și echipate cu o mulțime de detectoare în cadrul unui „Global Drifter Program”.

Putem extrapola din trecutul nostru și din cauzele sfârșitului diferitelor civilizații pentru a ne prezice viitorul? Au existat aproximativ 20, unii spun chiar 50, de ere glaciare, cauzate de efecte fizice, precesia periheliului sau catastrofe precum meteoriți, evenimente cosmice sau erupții vulcanice. Oamenii au șanse mici de supraviețuire, pentru că nu se pot adapta foarte repede. *Archaea*, din nefericire, dezvoltă, de asemenea, lent noi modalități de supraviețuire. Din nou, unele

forme de viață ar putea fi protejate în nișe - așa cum a fost acum 65 de milioane de ani - și ar putea începe din nou. Ar putea exista o reluare a începutului de acum 3,9 miliarde de ani sau chiar un alt Big Bang, precum cel de acum 14 miliarde de ani? *Da capo*!

Virușii „sociali”

Următoarele gânduri pot fi derutante: **Viruşii manifestă un comportament social**. Am refuzat să folosesc vocabularul războiului. Descrierile umanizante ale comportamentului viral sunt, de asemenea, inadecvate. Natura nu poate fi caracterizată ca fiind bună sau rea. Viața este pur și simplu orientată spre supraviețuire și replicare, însoțite de adaptare sau mutație și evoluție. Virușii sunt experți în acest aspect, reacționează direct și simplu, astfel încât comportamentul lor este ușor de înțeles. Cu toate acestea, există descrieri fanteziste ale virușilor, cum ar fi oportuniști, extremiști, minimaliști, ceea ce mi se pare cel mai important, ei sunt desemnați ca egoiști sau egoiști pe baza celebrei cărți a lui Richard Dawkins, *The Selfish Gene*. Virusurile sunt mutualiste, cu beneficii pentru ambele părți, și nu numai. Mutualismul se bazează adesea pe contribuția virusului la supraviețuirea gazdei - și, prin urmare, la creșterea progeniturii virusului. Cel mai frecvent tip de virusuri utilizate în cercetările mele au fost virușii „ajutători”; toți virușii canceroși sunt defectuoși și au nevoie de ajutători pentru a furniza straturi și a deveni transmisibili de la o celulă la alta sau între gazde. După cum am menționat anterior, virușii pot hrăni „ca o mamă” puii străini ai insectelor, pot promova supraviețuirea gazdelor lor prin repararea defectelor genetice, pot proteja unele plante împotriva deshidratării - în beneficiul altora, precum și al lor, adesea sub formă de mutualism sau simbioză. Virușii pot chiar să repare genele defecte ale unei gazde moarte, tot în beneficiul lor, se pot adapta la mediul lor și pot avea urmași - așa cum fac toate formele de viață. Comportamentele virale tipice pot fi descrise cu ajutorul definițiilor moleculare, cum ar fi complementaritatea, interacțiunea, interferența, transdominanța, cooperarea, cu capacitatea de a deveni parte a gazdei. Virușii au două moduri de interacțiune cu o gazdă - integrarea sau liza. Ambele extreme sunt legate de „stres”, lipsa de hrană sau de spațiu, care poate induce liza unei celule infectate cronic sau persistent și poate pune capăt integrării virale. Virușii cooperează și concurează - ambele sunt mecanisme de bază ale vieții. Doi viruși sunt mai eficienți decât unul singur, a se vedea virusul hepatitei Delta împreună cu virusul hepatitei B, sau virusul ruperii lalelelor împreună cu virusul marmorării crinilor - „mai eficienți” înseamnă că provoacă moartea gazdelor lor. Este posibil ca acest lucru să fi evoluat accidental. Totul se poate întâmpla. Cu toate acestea, înainte ca virușii să își distrugă toate gazdele, ei găsesc altele noi, doar din motive statistice, și nu vor elimina toate gazdele, pentru că pur și simplu nu o găsesc pe ultima dacă mai sunt doar câteva. Acestea pot crește din nou. Cel mai important, au fost menționate mai multe modele animale în care virusurile s-au dovedit inofensive - nu uitați, SIV nu mai ucide maimuțele. Ce poate fi extrapolat la alte populații sau societăți?

Ar putea fi util să se analizeze modul în care interacționează sistemele virus-gazdă. Fagii cu bacteriile lor sau virușii cu algele ca gazde au cicluri de viață asemănătoare. Invazivii care pătrund în anumite populații au două rezultate potențiale: fie are loc integrarea, ceea ce reprezintă o coexistență persistentă sau cronică, fie, alternativ, liza, perturbarea gazdei și eliberarea progeniturilor. Ambele mecanisme sunt posibile în funcție de faptul dacă gazda este „permisivă” sau nu pentru infecție, replicare, integrare sau liză. Acest lucru depinde, de asemenea, de factorii de mediu și o infecție cronică poate duce la un răspuns *litar* prin inducerea stresului, cum ar fi lipsa de nutrienți sau de spațiu. Cum se transpune acest lucru în societățile umane?

„Comportamentul social” poate fi observat chiar și în materia moartă, până la molecule, care se pot lega, respinge, stabiliza sau interacționa. Dacă viața a început cu ARN, atunci ARN trebuie să fie capabil să transmită un fel de informații utile. Într-adevăr, ARN-ul poate distruge alte ARN-uri recunoscute prin împerecherea bazelor (aceasta este, de exemplu, ceea ce fac *ribozimele*), dacă concurează pentru aceleași resurse. Atracția și respingerea le cunoaștem până la nivelul interacțiunilor moleculare sau atomice. Microbiomul indivizilor este poate un factor care contribuie la interacțiunile sociale. Sărutul poate fi o echilibrare a microbiomului între doi parteneri - ce

deziluzie! De la transferul de informații la comportamentul social este un salt mare, dar poate fi o consecință logică. Similitudinile dintre micro- și macro-lume au fost deja menționate. Structuri precum frunzele de trifoi seamănă cu ARNt-urile de transfer, sau supresorul de tumori p53 cu „mâini” sau „degete”, care identifică mutațiile și dau timp celulei pentru reparații!

Ce spuneți despre fenomenul „camuflajului” ținute care imită peisajele, folosit ca truc tipic uman de către soldații aflați în luptă pentru a-și înșela inamicii? „Virușii prezintă acest tip de comportament?” am fost întrebat odată. Da, foarte mult, **este aproape un semn distinctiv al virușilor să pretindă că sunt ceva ce nu sunt**. Se poate spune că trișează. Intrarea virușilor într-o celulă se bazează adesea pe mimarea unei etape sau componente celulare normale. HIV se leagă de un receptor CCR5, ca și cum virusul ar fi ligandul său obișnuit. Virusurile interacționează cu celulele gazdă utilizând mecanisme celulare normale și imitând produsele genetice celulare. Camuflajul este baza aproape tuturor interacțiunilor virus-gazdă.

ARN poate face distincția între ARN înrudit și ARN străin prin omologia secvenței. Celulele ocupate de ARN nu admit intrarea altor ARN înrudite, așa cum s-a menționat pentru *ribozime*, viroizi și viruși ca apărare antivirală. Ne proiectăm gândirea în lumea *nano*, vorbind despre similitudini structurale sau camuflaj de la lumea macro la lumea micro? Principiile arată la fel, suntem înrudiți.

O nouă „genetică” fantastică cu hormoni sexuali

Spre final, aș dori să trezesc speranța și să descriu câteva miracole, noi evoluții fantastice - care reflectă starea noastră actuală și, de asemenea, lipsa de cunoștințe.

Mamele grase au nepoate grase - iar bunicii fumători își afectează nepoții.

Am învățat despre epigenetică, care nu se datorează schimbărilor genetice, nu mutațiilor, ci factorilor de mediu care influențează activitatea sau expresia genelor noastre. Toxina, căldura sau alimentele pot duce la apariția unor ARN care activează modificări chimice (metilarea sau acetilarea ADN-ului sau histonelor) și modifică expresia genelor. Acest lucru este dincolo de genetică și, prin urmare, desemnat ca epigenetică. Aceasta este în mod normal ștearsă în timpul împerecherii. Următoarea generație o poate lua de la capăt. Prin urmare, această procedură este, în cel mai bun caz, un efect de învățare pe tot parcursul vieții - și nu se transmite generației următoare.

Cu toate acestea, acest lucru continuă: dintr-o dată trebuie să învățăm că ceva se transmite de la bunici la nepoate sau de la bunici la nepoți. Ceea ce mănâncă bunicii poate lăsa în urmă schimbări în genele nepoților lor. Acest transfer de informații este cel mai probabil limitat la momentele din timpul sarcinii. Timp de trei generații, modificările epigenetice ale genelor sunt transmise de la mamele însărcinate la embrioni și la celulele germinale ale embrionului, după cum demonstrează studiul Dutch Famine.

Acesta este acum un efect pe două generații, o moștenire fără gene mutate, o epigenetică mai susținută. Culorile boabelor de porumb pe care Barbara McClintock le-a descris ca schimbări epigenetice. Deja când a descris efectul epigenetic, din nou boabele de porumb au indicat un fenomen suplimentar, cu efecte nu pentru o viață, ci pentru mai multe generații. Acest fenomen a fost observat de geneticianul canadian Royal Alexander Brink încă din 1956, pe care l-a denumit „paramutație”, adică nici mutație reală, nici epigenetică pentru o durată de viață. Acum descriem acest fenomen și ca efect transgenerațional, deoarece sunt afectate mai multe generații ulterioare.

Iată un exemplu: șoarecii mutanți au dungi albe pe coadă. Dacă se împerechează șoarecii, dungile albe nu se supun legilor moștenirii. În loc să se încrucișeze șoarecii, se poate merge chiar mai departe și să se extragă ARN de la șoarecii cu coadă albă și să se injecteze în venele celor cu coadă neagră. Descendenții lor pot avea cozi albe - un rezultat complet neașteptat. Printr-o bucată de ARN! Numele ARN-ului este „piRNA”, iar numele genei este „kit”. Această genă este cunoscută de cercetătorii oncogenei, proto-oncogenei sale este o tirozin kinază receptoare a celulelor **stem**, o moleculă de semnalizare. S-a demonstrat că această moleculă de semnalizare trece prin spermatozoizi până la următoarea generație. De asemenea, poate fi izolată din spermatozoizi. Acest lucru a fost demonstrat în 2006 de omul de știință Minoo Rassoulzadegan din Nisa, o prietenă și

colegă de-a mea - care s-a străduit și încă se străduiește să-și convingă scepticii cu privire la rezultatele sale surprinzătoare. Ea estimează că aproximativ 200 din cele 10 000 de gene de șoarece s-ar putea comporta astfel. Au ele în principal efecte asupra reproducerii? Mă întreb!

Dungile albe sunt o trăsătură caracteristică a zebrelor și, de asemenea, a peștilor zebră. Acestea au fost studiate de laureatul german al premiului Nobel Christiane Nusslein-Volhard pentru proprietățile de dezvoltare. Dungile nu sunt cauzate de un virus sau de efectele mediului, ci în principal de două sau trei tipuri de celule și se bazează pe genetică. Peștii zebră mutanți pot prezenta dungi perpendiculare, întoarse cu 90 de grade! Chiar și petele pot rezulta din mutații.

Darwin a sugerat că culorile au consecințe asupra *sex-appeal*-ului și reproducerii. De asemenea, culorile joacă un rol social, băștinașii din triburile africane își vopseau pielea pentru a-și indica apartenența la o comunitate. Noi, oamenii, trebuie să găsim vopsele, uniforme, coduri de îmbrăcăminte și altele asemenea, deoarece nu avem modele, ci doar melanocite pentru pielea deschisă sau închisă la culoare, poate încă un tip de celule pentru părul roșcat. Toate dungile cauzate de genetică sau epigenetică, implică formarea periodică de modele cu activator și inhibitor. Celebrul matematician britanic Alan Turing, cunoscut pentru rezolvarea codului ENIGMA al submarinelor germane în timpul celui de-al Doilea Război Mondial, precum și James D. Murray de la Princeton în articolul său „*How the leopard gets its spots*” descriu cum apar tiparele. Aici m-am entuziasmat, pentru că există un virus Tulip Breaking care provoacă lalele dungate, virusuri Potato sau Papaya Ring Spot pentru dungi, pete, inele, pestrițe, chiar și micii viroizi participă la jocurile de tipare, *Viroidul Tuberului Fusiform* al Cartofului. Poate că mutațiile, paramutațiile și infecțiile virale au caracteristici comune. Mecanismele moleculare care includ reducerea la tăcere nu sunt bine înțelese.

Efectele transgeneraționale există și în cazul plantelor. Se pot cultiva roșii sau cartofi și se pot pune omizi pe frunzele lor, împotriva cărora acestea luptă prin producerea de toxine, iar generația următoare a ambelor plante face la fel fără să fi întâlnit vreodată o omidă periculoasă. Chiar și planta de grâu *Arabidopsis*, destul de săracă, își amintește de generații întregi cum să facă față unei cantități prea mari de sare în sol sau căldurii. Acestea sunt reacții rapide și memorie pentru câteva generații. Ar putea o astfel de corecție tranzitorie rapidă să preceadă o memorie pe termen lung? Dar mai mult de trei generații?

În final, am putea specula cu privire la unele „miracole” - lucruri pe care încă nu le înțelegem, dar despre care totuși ne întrebăm. Viermii *C. elegans* sunt atrași de o picătură de feromoni, semnale sexuale și de împerechere pe o farfurie de cultură în laborator. Acum intervine miracolul: câteva generații mai târziu, urmașii se întâlnesc exact în același loc, chiar dacă mirosul feromonului a dispărut de mult; nu este nevoie de niciun indiciu. Acest lucru a fost demonstrat între timp pentru până la 50 de generații de viermi. Sună incredibil. Un al doilea experiment susține acest lucru. Viermilor *C. elegans* le place să trăiască în livezi, precum cele din Orsay, în apropiere de Paris, unde au fost studiați. Merele tind să cadă în livezi, iar viermii se hrănesc cu plăcere cu merele stricate - care conțin alcool. După 30 de generații, viermii „dependenți” de alcool și-au amintit locurile în care a fost vărsat etanolul pe o placă Petri, fără a mai rămâne niciun indiciu de alcool.

Suspectul este un ARN mic, care probabil provoacă modificări în cromatină și stochează aceste informații. Acest comportament ridică întrebarea dacă nepoții vor găsi și vor vizita bordelurile pe care bunicii lor le-au frecventat cu mult timp în urmă? Nu! Oamenii sunt prea complicați. Sunt viermii mai mult decât o excepție - sunt ei poate un model pentru alte organisme - dependenți de alcool?

Albinele sunt bine cunoscute pentru structura lor socială puternică, iar acum sunt analizate pentru ARN transmis. Doar albina regină primește jeleu regal. S-a raportat că jeleul regal conține un ingredient pentru comportamentul social al generațiilor următoare: componentele jeleului regal sunt în prezent disecate și analizate, pentru a căuta piARN. Putem cumpăra jeleu regal pentru 5 euro în supermarketurile germane - pentru un comportament social mai bun? Asta ar fi prea simplu. Dar alimentația care duce la efecte transgeneraționale sau de paramutație a fost dovedită în mod fiabil că există în plante și viermi, nu atât de durabilă la om încă.

ARN-ul spermei are deja un nume, este „ARN de interacțiune PIWI” sau piARN, indicând faptul că ARN-ul poate interacționa cu proteina PIWI, o foarfecă, o moleculă asemănătoare RNazei

H. Ce scindează foarfecele? Transposonii, genele săritoare, ARN-ul retrotransposonului este „redus la tăcere”, tăiat. ARNpi este puțin mai lung decât ARNsi, este specific pentru celulele germinale, este responsabil pentru „îmblânzirea” genelor săritoare și este „gardianul” genomului nostru în celulele germinale. Acesta este necesar pentru fertilitate. Poate că previne o „catastrofă a erorilor”, prea multe mutații. Are, de asemenea, un efect asupra învățării și memoriei - asupra celulelor creierului, asupra neuronilor - și asupra moștenirii comportamentului învățat și social și asupra longevității? Și în sfârșit: există o legătură cu sexul, împerecherea, producția de progenituri? Am această suspiciune. (Aici tinerii cercetători ar putea dori să se implice. Un loc unde pot merge este Cambridge, Marea Britanie, la Eric Miska).

ARNpi poate fi peste tot. ARNpi este poate specializat pentru împerechere și supraviețuirea speciei.

Acest lucru îmi sună cunoscut: ne amintește de moștenirea proprietăților dobândite propagată de Jean-Baptiste Lamarck, botanist și zoolog francez (1744-1829). El a publicat o carte *Philosphie Zoologique* (1809), contestându-l pe Charles Darwin și cartea sa *Originea speciilor* (1859), bazată pe adaptarea prin selecție. Acest lucru este acum discutat din nou în mod activ. Poate că contradicția dintre cele două poate fi mai puțin dramatică decât pare: Ar putea fi posibil ca proprietățile dobândite, paramutațiile, să se fixeze genetic după câteva generații ca mutații reale? ARN-ul poate deveni ADN, asta o știm de ceva vreme. Transcriptaza inversă magică și omniprezentă ar putea ajuta.

Poate că acest lucru se poate întâmpla și cu piARN - dar aceasta este speculația mea nebună. Astfel se închide cercul de la **pre**- sau **pro**-ARN-ul primar, ARN de tip viroid, la ribozime, la circARN și acum și la piARN-ul spermei, toate cu structuri de ARN cu bucle în ac de păr - atât de robuste încât au rezistat tuturor pericolelor de la începuturi până în prezent, timp de aproximativ 3,8 miliarde de ani. Acest lucru închide și cercul acestei cărți.

Dar multe întrebări rămân deschise. Ce se întâmplă cu alte fenomene ciudate? Ce sunt sistemele de poziționare globală, „GPS”, pentru stocarea informațiilor în diferite animale? Țestoasele care traversează înot oceanele pe o distanță de 12 000 de kilometri, singure, timp de 20 de ani, pentru a-și depune ouăle pe o anumită plajă nisipoasă? Puii vor urma aceeași rută de tranzit și își vor depune ouăle pe aceeași plajă, fără să învețe acest lucru de la mamele lor, care au murit înainte ca ele să eclozeze. La grădina zoologică din Berlin, îngrijitorii de animale au fost nevoiți să învețe să nu miște nicio piatră din cușca unei țestoase, pentru că, dacă o fac, țestoasa nu se va reproduce. În fiecare primăvară, berzele își găsesc cuibul în Linum, un mic sat de lângă Berlin, venind tocmai din Africa, mai întâi masculul și puțin mai târziu femela - găsindu-se reciproc. Fluturii monarh au murit atunci când copacii pe care obișnuiau să se adune pentru împerechere au fost tăiați. Știm cu toții despre păstrăvii sau somonii care își amintesc unde să își depună ouăle și unde să își pună sperma. Magnetismul, mirosurile, chemotaxia, magnetismul, lumina sau lumina polarizată, culoarea, hrana sau dușmanii, tot felul de factori de mediu pot contribui - poate în principal pentru reproducere și progenituri - încă de la începutul vieții, acum 3,8 miliarde de ani. Ar putea piARN să contribuie la primul pas, fertilizarea ouălor de către spermatozoizi, în plus față de genele sub formă de ADN? ARN-ul a existat din timpul zero; piARN este o variație a temei, informația este moștenită sub formă de ARN în lumea ARN și mai târziu sub formă de ADN, dar ARN-ul a rămas cu noi.

Virușii pentru prezicerea viitorului?

Putem învăța ceva de la viruși și fagi și gazdele lor despre continuarea vieții și viitorul sau sfârșitul omenirii? Bolile infecțioase reprezintă principala cauză de deces pe planeta noastră. Aproximativ 100 de milioane de oameni au murit, în condiții devastatoare, de gripă în timpul Primului Război Mondial. Aproximativ 37 de milioane, predominant în țările în curs de dezvoltare, au murit de HIV/SIDA. 15 milioane de oameni mor anual de boli infecțioase în întreaga lume, aproximativ 10 milioane de cancer - dintre care 1,5 milioane de cazuri implică viruși. O nouă „epidemie” este obezitatea, care afectează aproximativ 300 de milioane de oameni, iar unii

cercetători preconizează că până la o treime din omenire va fi în curând obeză - fără ca vreun „agent infecțios” cunoscut să fie implicat. Nu există niciun virus cunoscut ca fiind cauza - dar cum rămâne cu bacteriile? La urma urmei, antibioticele sunt administrate animalelor pentru a le creşte masa corporală. Se estimează că adolescenţii de astăzi au avut o duzină de cicluri de antibiotice în viaţa lor, ceea ce modifică microbiomul din intestinele lor. Acest lucru ar putea explica creşterea rapidă, total neclară până în prezent, a obezităţii, care pare o epidemie. Această posibilitate este discutată serios. S-a demonstrat că obezitatea creşte cancerul şi modificarea diferenţierii celulelor **stem** în intestin. Care sunt consecinţele potenţiale asupra compoziţiei bacteriene din ecosistemul unei persoane şi pe termen lung? Dacă bacteriile sunt afectate, virușii/fagii sunt, în mod natural, şi ei afectaţi, deoarece, la urma urmei, ei lizează bacteriile în condiţii de stres, care includ obezitatea şi microbiomul din intestine. Dar *arhaea* şi drojdia? Nimeni nu ştie.

Am subliniat faptul că microorganismele nu ne îmbolnăvesc dacă organismul nostru se află într-un ecosistem bine echilibrat. Totuşi, astfel de sisteme stabile nu există permanent - altfel nu ne-am îmbolnăvi niciodată. Trebuie chiar să ne îmbolnăvim din când în când pentru a ne antrena sistemul imunitar, dacă nu vrem viermi pentru antrenarea lui. Echilibrele se destabilizează. Lipsa de spaţiu, oxigen şi nutrienţi, prin apropierea oamenilor şi a animalelor, poate fi greu de evitat, iar acestea provoacă stres. **Stresul poate activa virușii**. Bolile infecţioase sunt printre principalele cauze de deces în ţările în curs de dezvoltare. Totuşi, microorganismele sau bolile infecţioase nu vor elimina omenirea. Acestea nici măcar nu au fost discutate ca unul dintre pericolele pentru omenire în studiul NASA. Totuşi, acestea pot regla densitatea populaţiei. Microorganismele şi virușii ne vor supravieţui cu siguranţă nouă, mamiferelor şi eucariotelor. Ei au fost aici cu mult înaintea noastră, de aproximativ 3,8 miliarde de ani. Noi am venit mult mai târziu; Lucy a ieşit din Africa acum aproximativ 3,2 milioane de ani. Au supravieţuit doar cei care au putut face faţă microorganismelor din mediul existent. Noi chiar avem nevoie de microorganisme şi depindem de ele. Suntem invadatori în lumea bacteriilor şi a fagilor - nu invers. Ele ne ajută să ne digerăm alimentele, să ne populăm corpul şi să ne protejăm împotriva germenilor necunoscuţi. Viaţa însăşi va supravieţui fără noi sub forma microorganismelor. Bacteriile şi fagii sunt autonomi, microbii nu au nevoie de noi, dar noi avem nevoie de ei. Cele mai versatile elemente sunt virușii, bacteriile şi poate *arheele*; acestea din urmă ne dau cel puţin o idee despre condiţiile extreme la care viaţa poate face faţă. Toate acestea pot reîncepe după o catastrofă care le pune viaţa în pericol. Este posibil să fi făcut acest lucru de mai multe ori. Cu toate acestea, timpul de aşteptare pentru ca o fiinţă umană să devină un extremofil care, la fel ca *archaea*, poate supravieţui căldurii, sării mari, otrăvirii sau altor condiţii extreme, ar fi prea lung. Suntem prea complecşi, prea lenţi, prea mari, incapabili să ne adaptăm rapid.

Este posibil ca oamenii să fie suficient de inteligenţi şi inovatori pentru a se proteja împotriva osândei. Putem fi suficient de inteligenţi, dar poate prea egoişti, nu suficient de mutualişti. Studiile comportamentale au indicat că oamenii nu se comportă mutualist în grupuri mai mari de 150 de persoane - ceea ce corespunde unei familii extinse cu prieteni şi vecini. Atunci când oamenii vor trăi în megaoraşe, aşa cum o vor face mulţi conform unei previziuni privind populaţia lumii, ar putea atunci microorganismele şi virușii să ne distrugă şi să eradicheze omenirea? Ca răspuns, iată un exemplu: Când hantavirusurile din New Mexico nu au mai găsit şoareci ca gazde, din cauza schimbărilor de mediu, au sărit în schimb la oameni. Acest lucru poate continua atâta timp cât există gazde alternative. Mobilitatea noastră crescută accelerează găsirea de noi gazde, aşa cum am văzut în cazul SARS coronavirus; pentru ca acesta să se răspândească de la Hong Kong la Vancouver au fost necesare doar câteva ore. Dar dacă nu mai există gazde disponibile, ce s-ar întâmpla atunci? Unde s-ar duce microorganismele? Şi-ar schimba strategia: Nu şi-ar mai exploata sau chiar ucide gazdele, dacă nu există altele noi, ci ar găsi modalităţi de adaptare şi de coexistenţă. Acest lucru se întâmplă în mod constant. Exemplele sunt maimuţele rezistente la virusul SIV şi koala rezistenţi la virusul leucemiei maimuţelor gibon, GaLV, care au endogenizat virușii infectanţi în genele lor, unde nu numai că au fost toleraţi, dar au şi protejat gazda împotriva străinilor. Secvenţele de tip virus au intrat în genomul eucariotic ca protecţie împotriva virușilor externi. Acestea erau virușii exogeni, aşa cum s-a demonstrat cu virusul Phoenix reconstruit, care a devenit

endogen și ne-a protejat o dată împotriva celor exogeni. Atunci microorganismele nu ar mai fi pericole mortale pentru omenire, ci ne protejează din ziua naşterii. Se poate extrapola acest comportament la oameni, dușmanii devenind prieteni - ca cea mai bună sau singura modalitate de supraviețuire? Aceasta este o veste bună dacă ne speriem de pandemii. Numărul morților poate fi mare, dar nu este niciodată nelimitat. Există analize ale șanselor noastre viitoare, care prevăd că civilizația noastră modernă nu poate supraviețui. Un astfel de studiu se numește HANDY (*Human and Nature Dynamics*) din 2014. Acesta include mai multe subiecte pentru cel mai rău scenariu, cum ar fi creșterea densității populației, lipsa resurselor (apă, hrană, energie), catastrofe naturale, cum ar fi schimbările climatice și, în cele din urmă, instabilități sociale și politice, cu inegalitate economică, decalajul dintre bogați și săraci. Acești factori au fost considerați a fi principalele cauze ale căderii imperiilor: roman, mayaș, cambodgian. Prăbușirea este inevitabilă, acesta a fost pronosticul. Studiul folosea ecuații diferențiale pentru previziunile scenariilor viitoare. Acest lucru a fost prea pesimist chiar și pentru NASA, care a făcut un pas înapoi de la acest pronostic. Este interesant de observat că acest studiu nu a luat în considerare microorganismele. Acestea nu se află pe lista amenințărilor la adresa vieții pe planeta noastră. Au fost excluse bolile, microorganismele și agenții infecțioși. Densitatea populației a fost prima pe lista de mai sus - aceasta va avea un impact puternic asupra bolilor infecțioase, dar poate mai mult la nivel local decât global.

Ce se întâmplă cu alimentele? Aici sunt implicați virușii. Producția de nutrienți s-a dublat datorită progreselor tehnice din ultimii 100 de ani - în primul rând de către chimistul german Fritz Haber, care, în 1915, a dezvoltat o metodă de fixare a azotului ca îngrășământ, care și astăzi permite omenirii să se hrănească. Avem nevoie de tehnologii noi și, din fericire, am reușit deja o inovație importantă: Alimentele modificate genetic vor fi cu siguranță o posibilitate principală de a ajuta la hrănirea omenirii. Suntem norocoși că există. Dar trebuie să învățăm cum să le folosim în mod corespunzător. Astfel, s-ar putea să nu fie nevoie să mâncăm „pietre”, așa cum a discutat Dyson, sau să ne crească din nou blana și să avem nevoie de mai puțină încălzire. A mânca insecte sau alge nu ar fi atât de rău. Unele calcule prevăd că limitele creșterii sunt atinse cu 12 miliarde de oameni. Aceste previziuni nu includ etape inovatoare și nu sunt fiabile. Amintiți-vă că, în urmă cu o sută de ani, s-a prevăzut că excrementele de cal vor bloca străzile Berlinului - dar apoi au apărut mașinile și nu a mai apărut catastrofa merelor de cal! La rândul lor, mașinile au dat naștere la noi extrapolări înspăimântătoare.

La scară cosmică, soarele va distruge totul în cele din urmă. Va deveni prea fierbinte mai întâi pentru noi și mai târziu pentru microorganisme. În calitate de fizician nuclear, cred că în cele din urmă soarele va exploda, urmând ciclul stelar (diagrama Hertzsprung-Russell) și va deveni mai întâi o „gigantă roșie” și apoi o „pitică albă”. Giganta roșie va arde planeta noastră. Timpul până atunci s-a scurs pe jumătate, deci mai avem în față o a doua jumătate de încă 4 miliarde de ani - dar numai dacă alte evenimente cosmice nu ne elimină mai devreme.

Cu toate acestea, putem să întoarcem argumentul? Lumea microorganismelor ar putea ridica și ea unele speranțe, dacă ne gândim bine. În fiecare toamnă, înflorirea algelor și peluzele bacteriene de pe oceane sunt terminate de virușii, care contribuie la dinamica populației și la reciclarea nutrienților. Există întotdeauna supraviețuitori, începând cu un număr mic inițial și crescând exponențial. Vara viitoare, algele vor înflori din nou dacă există suficiente substanțe nutritive. Ar putea fi aceasta o speranță? Chiar dacă multe specii vor muri, subpopulații de specii diverse ar putea scăpa printr-un blocaj al densității populației - transpozonii mei se activează - și ar putea contribui la dezvoltarea de noi proprietăți. Este posibil ca astfel de fenomene să se fi întâmplat de cinci ori în trecutul planetei noastre. Mai recent, acestea au fost adesea locale. „Deepwater Horizon”, cea mai mare deversare de petrol de până acum, a demonstrat oamenilor de știință surprinși că microorganismele au crescut, au digerat petrolul și au dispărut din nou atunci când petrolul a fost consumat și au rămas fără hrană. În mod similar, după accidentul de la Cernobîl, unele plante au crescut mai bine pe solul contaminat radioactiv. Probabil că ne așteaptă și alte surprize. Mutațiile au loc în mod constant. Am învățat să bem lapte, putem mânca alimente diferite, picioarele pot degenera sau ne pot crește mai multe degete pentru a folosi computerele. Am pierdut deja 6 000 de receptori pentru miros și gust și am rămas cu 60, deoarece ne putem descurca având doar atât de

puțini.

Lumea este foarte eterogenă; ea oferă nișe în care viața se poate ascunde și păstra. Astfel, ceea ce se întâmplă cu lumea algelor și cu mareea roșie s-ar putea întâmpla și cu noi, oamenii. Creșterea excesivă este urmată de distrugerea indusă de un virus și de o repornire în sezonul următor. S-ar putea să existe întotdeauna o nișă undeva, un mic iaz cald la început, așa cum a descris Darwin. Acest lucru s-a întâmplat și în Yucatan. Viața nu poate fi ușor eradicată complet.

Ajutoarele noastre pentru supraviețuire sunt virușii, care ne furnizează gene noi. Virusurile, inclusiv elementele mobile, sunt inovatoare, au contribuit și vor continua să contribuie în viitor la întreaga viață, la adaptare, supraviețuire și biodiversitate. Trebuie să ne amintim că putem influența virușii, saltul elementelor transpozabile, prin factori de mediu care favorizează sau diminuează activitatea de salt. Noi suntem, de asemenea, responsabili. Retrotransposonii variază foarte mult în activitățile lor de salt.

Numai în oceane, 10^{27} de gene sunt schimbate zilnic între viruși și gazdele lor. Există multe gene noi pentru noi, iar rata mare de mutații virale și schimbul de gene ne vor ajuta să supraviețuim. Virusurile, în special *retrovirusurile* și *retroelementele* asociate acestora, au contribuit la evoluția vieții, la supraviețuirea tuturor speciilor de pe această planetă. Fără viruși nu am fi avut acest progres, această diversitate; de fapt, nu am fi existat. Totuși, datorită virușilor, existăm.

Și unde este Dumnezeu? Această întrebare mi-a fost adresată la sfârșitul unui interviu despre viruși la televiziunea elvețiană, într-o duminică dimineața. Întrebarea a venit ca o surpriză. Răspunsul meu spontan a fost și este în continuare: oriunde întâlnim „necunoscutul”, ne simțim înclinați să credem într-un Dumnezeu. Miracolele pot fi explicate de știință. Dar fiecare soluție deschide noi întrebări și indică noi miracole. Întotdeauna vor exista miracole, indiferent cât de multe cunoștințe vom acumula. Putem atribui întotdeauna necunoscutul activității unei puteri superioare, a unui Dumnezeu-Tatăl, dacă doriți. Eu nu pot să cred asta, dar cei care pot sunt mai buni decât mine.

Glosar de termeni

AA/aminoacid: Component al proteinelor care sunt polimeri de AA produşi de ribozomi, aceştia citesc ARN mesager (ARNm) în celulă şi sintetizează polimerul AA, proteina; fiecare triplet (codon) din secvența ARNm corespunde unui AA, ARN de transfer sau ARNt transportă AA individuali la ribozom pentru asamblare, există 20 de AA canonici, doar aproximativ 2% din codul genomului uman pentru proteine.

Ab: Anticorpi, cunoscuți și sub numele de imunoglobuline, secretați de celulele B specializate, au o regiune hipervariabilă ca loc de legare a antigenului, au nevoie de timp pentru a se forma, diversitatea apare prin rearanjări care implică nucleaze de tip RNase, enzimele RAG, enzimele 1 și 2 activate prin recombinare. Vaccinurile acționează prin inducerea de anticorpi, în special anticorpi neutralizanți care previn infecția prin neutralizarea proteinelor de suprafață ale virusurilor, anticorpii fac parte din vaccinurile pasive (spre deosebire de vaccinurile active, în care organismul trebuie să producă anticorpul după imunizarea cu un antigen), cel mai bun mod de combatere a bolilor infecțioase virale.

ADA: Deficitul de adenozin deaminază, o tulburare metabolică care cauzează deficit imunitar, copiii nu pot face față agenților patogeni și trebuie să stea în corturi sterile, boală model pentru terapia genică.

Şoarece agouti: Șoarece a cărui culoare a blănii indică efectele mediului, inclusiv substanțele cancerigene, blana galbenă și obezitatea indică alimente cancerigene care induc modificări epigenetice, sunt identici genetic cu șoarecii negri și slabi, care sunt sănătoși.

ALS: Scleroză laterală amiotrofică, boală ereditară care provoacă paralizie progresivă.

Alu: Element ADN reglator scurt, repetitiv, fără informație genetică, poate exercita efecte reglatoare asupra genelor vecine, aparține familiei SINE de retroelemente, 1,1 milioane de copii în genomul uman (10,7% din secvență), în principal în genomurile primatelor.

anticorp: A se vedea Ab.

apoptoză: Moarte celulară programată, diferită de moartea celulelor (necrotice), un program reglementat care este activat atunci când celulele nu mai sunt necesare sau sunt periculoase, cum ar fi celulele canceroase.

archaea: Unul dintre cele trei regnuri ale vieții, pe lângă bacterii și eucariote, denumirea anterioară era *archaebacteria* care nu mai este utilizată, *archaea* (plural) pot fi cele mai vechi celule din arborele vieții.

Argonaute: Enzimă pentru reducerea la tăcere a expresiei genelor, alcătuită din domeniile PAZ și PIWI (precum transcriptaza inversă și RNaza H din retrovirusuri) în complexul de reducere la tăcere indusă de ARN (RISC), proteinele Argonaute leagă ARN mici regulatoare necodificatoare, care apoi ghidează complexul către un ARN țintă pentru clivare.

bacteriofag: La fel ca fagul, virusul bacteriilor.

bază sau pereche de baze: Abrevierea **bp** pentru acizii nucleici cu două catene sau numai **baza** ca abreviere a unei nucleotide compuse din bază și zahăr, elementele de bază ale ADN-ului sau ARN-ului cu o singură catenă. Regulile perechilor în nucleele cu două catene sunt simbolizate prin A-T și G-C pentru ADN sau A-U și G-C pentru ARN.

BDNF: factor neurotrofic derivat din creier, o moleculă de semnalizare umană care joacă un rol în comunicarea dintre intestine și celulele creierului.

conversie bisulfit: Metodă de detectare a nucleotidelor metilate din ADN, care este un marker important al reglării epigenetice, se pot distinge citosinele (C) metil-modificate și nemodificate, tratamentul convertește C în timină (T), în timp ce C metil-modificată nu este afectată de tratamentul cu bisulfit.

bnAB: Anticorp cu neutralizare largă împotriva unui spectru larg de tulpini HIV pentru neutralizarea virusului, blocând absorbția celulară a virusului și infecția.

BL: Limfom Burkitts, a se vedea cancer

EBV: Celule care cresc necontrolat sau pe termen nedefinit din cauza unor evenimente genotoxice provocate de combinația mai multor efectoare de mediu, radioactivitate, toxine, oncogene, unii viruși, defectele genetice pot fi moștenite, efecte în mai multe etape sau multifactoriale, activarea genelor cancerului sau pierderea genelor supresoare de tumori, poate avea 18 introni (media normală este de 5-7), ceea ce duce la o complexitate ridicată, se poate dezvolta pe parcursul a 30 de ani.

Cas9: proteina 9 asociată CRISPR, foarfecă moleculară care clivează fracțiunea ADN în hibrizii ARN-ADN, apărare împotriva fagurilor ADN la bacterii și archaea, conținând aminoacizi DDE asemănători RNazei H (o DNază H care clivează ADN în hibrizii ARN-ADN).

activitate catalitică: Proteinele cu activitate catalitică sunt enzimele, ARN cu activitate catalitică sunt ribozimele sau adesea virozele, ambele accelerează reacțiile chimice și pot fi reutilizate.

CCR5: Receptor pentru molecule de semnalizare (chemokine) pe suprafața celulelor umane, co-receptor pe lângă receptorul CD4 pentru ca HIV să intre într-o celulă gazdă; un limfocit sau macrofag CD4 cu CCR5 este prima celulă țintă, ulterior sunt infectate celulele cu CXCR4, un alt receptor de chemokine.

ciclul celular: Viața unei celule, care cuprinde duplicarea genomului sau sinteza ADN (faza S), creșterea și diviziunea (mitoza sau faza M).

Dogma centrală: Fluxul de informații în interiorul unei celule, conform lui R Crick: „De la ADN la ARN la proteine” transferul de informații de la ADN la ARN se numește transcriere, rolul important al ARN ca primă biomoleculă sugerează că direcția opusă a apărut prima în timpul evoluției: de la ARN la proteine și de la ARN la ADN, apoi așa-numita transcriere „inversă” este cea reală (originală).

cromatină: Complex de ADN celular cu proteine, cum ar fi histonele, în jurul căruia se înfășoară ADN-ul, poate fi schimbat prin modificări epigenetice (cum ar fi metilarea ADN-ului și acetilarea histonelor).

cromozom: Materialul genetic (genomul) al eucariotelor este distribuit pe molecule liniare de ADN cu proteine asociate, numite împreună cromozomi, oamenii au 22 de cromozomi comuni, fiecare prezent în două exemplare, plus doi cromozomi specifici sexului (femele: XX, masculi: XY), în total 46 de cromozomi.

cladă: Grupuri de HIV aparținând anumitor caracteristici ale proteinelor de suprafață, M (grup major) pandemic, C prevalent în Africa de Sud.

codon: Tripletă de trei nucleotide care codifică pentru un aminoacid, există mai multe triplete decât aminoacizi (redundanță), „ADN sau ARN codificator” înseamnă că poate fi tradus într-o proteină, ARN/ADN necodificator nu poate.

culori: Pot ajuta la „observarea”efectelor mutațiilor, epi- și paramutațiilor la porumb, la șoarecii Agouti, la șoarecii cu coada albă, la dungile lalelelor, la plantele cu modele, dungi, pete inelare, tuberculi fusiformi, dar și la zebre, leoparzi și, după cum presupun, și la kois. Modelele de culoare apar printr-o interacțiune între, în esență, două tipuri de celule, substanțe chimice sau „morfogene”, un activator și un inhibitor, cu influența geometriei și a frecvențelor. Acest lucru este descris prin două ecuații diferențiale de celebrul matematician britanic Alan Turing în 1952. „Mecanismul Turing” se referă la un sistem de activare-difuzie sau la un sistem activator-inhibitor. Activatorul este poate uneori un virus, iar inhibitorul poate fi siARN-ul silențios care provoacă modele albe în petunii.

CONRAD și MTN-030/IPM 041: Acronim (Contraception Research and Development), sprijină studiile clinice împotriva infecției cu HIV, cum ar fi studiul MTN-030/IPM 041 care testează microbicide vaginale.

CpG: Abrevierea celor două nucleotide C (citozină) și G (guanină) legate prin punți fosfodiester în moleculele de ADN, un motiv important pentru reglarea epigenetică a genelor ca ținte ale metilării.

CRISPR/Cas9: Clustered regularly interspaced short palindromic repeats/ CRISPR-associated protein 9, un sistem de apărare antiviral al bacteriilor și al arheilor împotriva fagilor ADN invadatori, exploatat pentru ștergerea și modificarea genelor, denumit „editare”, o metodă nouă cu un potențial enorm de modificare a genelor la toate speciile, simplu de utilizat, rapid și ieftin, fără mecanisme recombinante, deoarece un ARN „ghid” prescrie noua secvență care este apoi copiată (editată). Nu există ADN modificat genetic, nu intră sub incidența legislației privind OMG-urile, ridică discuții etice.

CSH: Cold Spring Harbor, laborator și loc de presă și de conferințe în apropiere de New York care organizează simpozioanele de biologie cantitativă.

CXCR4 sau CCR5: Receptorii de pe limfocite care permit glicoproteinei de suprafață a HIV (gpl20) să se lege și să intre în celulă, în stadiile timpurii și târzii ale bolii.

ADN: Material genetic primar în majoritatea organismelor, compus din deoxiribonucleotide, în majoritatea cazurilor dublu-catenar, cunoscut sub numele de dublu-helix, stabil, unii viruși conțin ADN monocatenar sau ARN ca material genetic primar.

Drosha: Enyzme cu pliu de RNază H, scindează ARN dublu catenar pentru procesarea siARN (ARN interferant mic).

disbioză: Dezechilibru microbian în intestine din cauza unei boli.

EBV: virusul Epstein-Barr, un herpesvirus care provoacă trei boli, mononucleoza, o boală non-malignă „a sărutului” în lumea occidentală.

BL: limfomul Burkitts în Africa și carcinomul nazofaringian în China, în funcție de secvență și cofactori.

EC: Elite controller, persoane cu rezistență naturală sau control al încărcăturii HIV.

EHEC: bacterie Escherichia coli care provoacă boala enterohemoragică, poate apărea prin achiziția mediată de fagi a unei toxine (Shigatoxina) provenind din fecale animale și îngrășăminte, periculoasă pentru sănătatea umană, germenii contaminați cu EHEC au provocat cel mai mare scandal alimentar din Germania.

Institutul de bacteriofagi Eliava: Institut de microbiologie și virusologie din Tbilisi, Georgia, fondat de Felix d'Herelle și Georgi Eliava în jurul anului 1930, cu accent pe terapia cu fagi, există până în prezent, importanță crescândă pentru terapia cu fagi, vindecări spectaculoase ale degetelor diabetice.

EMBO: Organizația Europeană de Biologie Moleculară, cu sediul în Heidelberg, Germania, oferă reuniuni științifice de înaltă calitate, burse, stipendii și formare științifică, extinzându-se din Europa la programe mondiale.

EMEA: recent numită EMA, Agenția Europeană pentru Medicamente, evaluarea medicamentelor, protecția sănătății umane și animale, aprobarea studiilor clinice.

Etniliania huxleyi: Algă carbonică (coccolitoforă), prescurtată EH, formează peluze uriașe de alge înfloritoare, relevante pentru climă, poartă viruși de alge, denumiți EhV sau EHV, care pun capăt înfloritului prin liză ca răspuns la stres în toamnă, la temperaturi mai scăzute, ceea ce duce la reciclarea nutrienților.

(Retro)virus endogen: Secvență (retro)virală din genom care provine din infecții virale ale celulelor germinale, în mod normal nu formează particule, moștenite vertical de generațiile următoare; procesul de endogenizare poate fi observat în timp real la populațiile de koala australieni.

modificări epigenetice: Modificări nongenetice ale ADN-ului/ cromatinei, nu prin mutații de tip mendelian, declanșate de factori de mediu, atașarea de grupări metil la nucleotidele ADN-ului sau modificarea proteinelor asociate ADN-ului prin acetilare sau altele, și împachetarea ADN-ului în mod normal pentru o generație cauzate de influențele mediului, șterse în timpul fertilizării, dar uneori transmise și la următoarele două generații prin celulele germinale în principal prin stres în timpul sarcinii, cum ar fi foametea.

epigenetică: Modificări tranzitorii ale ADN/cromatinei fără mutații, genetică non-mendeliană, modificare chimică prin atașarea de grupări metil la ADN (de preferință la situsurile CpG) sau acetilarea proteinelor histonice, cauzate de ARN reglator și activarea ADN metiltrans-ferazelor ARN dependente, metilatorii, cauzând adesea inactivarea promotorilor, în mod normal, nu se moștenesc, culorile sunt indicatori vizibili ai modificărilor epigenetice, detectate pentru prima dată la porumb, modificările epigenetice pot fi implicate în cancer, necesită noi diagnostice, cum ar fi „conversia bisulfitului”, prin care C nemetajat din genom este transformat în T, care poate fi detectat ulterior prin secvențiere.

Erb-B2 sau HER2/neu: Oncogenă (genă de promovare a cancerului) a virusului eritroblastozei aviare, receptor al factorului de creștere epidermică, stimulează proliferarea celulară prin intermediul căii Ras-MAP-kinază, supraexprimată și indicator al cancerului de sân uman, 25% dintre pacienții cu cancer de sân prezintă mutații ale Erb-B2.

catastrofă de eroare: Într-o populație de molecule care se replică, frecvența erorilor (de exemplu, rata de mutație a moleculelor ARN) poate deveni prea mare și dăunătoare, de asemenea, o posibilă abordare terapeutică propusă de Manfred Eigen, conducând virușii care se replică la prea multe erori pentru terminare.

ERV: retrovirus endogen, ADN integrat în genomul eucariotelor, moștenit ca provirus ADN prin intermediul celulelor germinale, nu mai este infecțios, adesea defect, provine din infectarea celulelor germinale de către viruși anterior infecțioși, care adesea au dispărut, poate duce la o apărare antivirală împotriva virușilor similari, endogeneizarea este în prezent în curs de desfășurare la koala în timp real, identificat prin site-uri de integrare conservate, în timp ce virușii care infectează de novo se integrează la site-uri aleatorii, a se vedea Phoenix.

Celule ES: Celule stem embrionare, se pot transforma în una dintre cele 200 de celule speciale (diferențiate) ale corpului uman prin stimulatori biomoleculari, adesea interzise pentru cercetare, celulele diferențiate pot fi readuse din celule adulte diferențiate la starea embrionară printr-o combinație de patru factori de transcripție (a se vedea iPS).

ETH: „Eidgenössische Technische Hochschule”, Institutul Federal Elvețian de Tehnologie din Zurich, denumit și Poly pentru Polytechnicum, una dintre cele mai importante universități din Europa.

UE: Uniunea Europeană cu programe-cadru pentru sprijinirea programelor de cercetare multicentrică.

eubioză: Descrie starea de sănătate a microbiomului intestinal.

eucariote: Toate organismele ale căror celule conțin un nucleu, cum ar fi plantele, algele, ciupercile/lichidele, animalele și mamiferele, inclusiv oamenii, spre deosebire de procariote, cum ar fi bacteriile, care nu au nucleu.

exon: În genele eucariote, exonii constituie secvența care codifică proteinele, întreruptă de introni care nu codifică proteinele, genele virale și majoritatea genelor procariote sunt formate numai din exoni.

viruși spumoși: Pararetrovirusuri cu un ciclu de viață ușor diferit de cel al retrovirusurilor. Acestea efectuează etapa de transcripție inversă de la ARN-ul viral la ADN-ul proviral chiar înainte de a părăsi celula, nu imediat după ce intră în ea. Astfel, genomul viral împachetat este ADN, nu ARN ca în cazul retrovirușilor. Alte pararetrovirusuri sunt virusul hepatitei B, VHB sau virusurile plantelor, precum virusul mozaicului conopidei. Acestea împachetează ADN-ul în particule virale și, prin urmare, nu seamănă la prima vedere cu retrovirușii.

FT: Transfer fecal, transplantul de fecale de la o persoană la alta ca terapie împotriva infecțiilor cu *C. difficile*.

FTO: proteină asociată „masei grase și obezității”, una dintre mai multe gene asociate obezității, un segment lung de 47 000 de nucleotide, nu o singură proteină, multe variante de racordare, acționează împreună cu factorul de transcripție IXR3 asociat obezității.

gag: Una dintre genele retrovirale, antigen specific de grup, denumirea se bazează pe imunologia virușilor.

GaLV: *Gibbon ape leukemia virus*, un retrovirus de maimuță, care a ucis mulți koala înainte ca aceștia să devină rezistenți prin endogeneizarea virusului.

genă: Unitate a genomului care codifică proteinele care ne construiesc corpul și metabolismul, o genă poate codifica mai multe proteine, la eucariote, genele sunt compuse din exoni și introni,

exonii sunt regiunile care codifică proteinele, intronii pot fi eliminați prin „splicing”, scindarea și unirea transcriptelor ARN permite numeroase combinații, baza complexității umane.

genom: Întreaga informație genetică a unei specii, în mod normal ADN dublu catenar, moștenită și prezentă în fiecare celulă, compusă din gene, dar și din informație genetică necodificatoare, ceea ce înseamnă că nu codifică pentru produsele genelor, cum ar fi informația de reglementare.

compoziţia genomului: Oameni (3% transpozoane ADN, 45% total elemente transpozabile), drojdie (în principal retrotranspozoane, foarte puține transpozoane ADN), C. elegans (în principal transpozoane ADN, puține retrotranspozoane), plante (cantități variabile de transpozoane ADN și retrotranspozoane).

dimensiuni genom: *Amoeba dubia* (700 Bio bp), plantele Paris japónica (150 Bio bp), lalea sau porumbul (30 Bio bp), omul (3,2 Bio bp), ciuperci, alge, viermi (50 Mio bp), protiste (10-100 Mio bp), bacterii (1-10 Mio bp), archaea (aproximativ 6 Mio bp), viruși giganți (0,5-2. 5 Mio bp), Mycoplasma mycoides (1 Mio bp), Nanoarchaeum equitans (0,5 Mio bp), *Mycoplasma genitalium* (una dintre cele mai mici celule vii, 580 kbp), poxvirusuri (350 kbp), herpesvirusuri (100 kbp), virusuri gripale sau retrovirusuri (10 kb), poliovirusuri (7,5 kb), viroizi (0,3 kb).

virusuri gigant sau gigavirusuri: Virusuri neobișnuit de mari, gazdele lor includ amoebe și alge, „aproape-bacterii”, cu denumiri precum: mimivirus (pentru că imită bacteriile cu dimensiunea lor neobișnuit de mare), denumiri: mama-, marseille-, pandora-, pitho-, samba-, molliviruses, genomuri mari cu până la 2. 5 Mio bp, virușii giganți ai algelor includ EhV-86 care infectează Emiliania huxleyi și virușii Chlorella, virușii giganți găzduiesc viruși mai mici (virofagi), conțin componente pentru sinteza proteinelor, se presupune că sunt fie bacterii degenerate, fie precursori evolutivi incompleți, neterminate ai celulelor bacteriene.

OMG: Organism modificat genetic, căruia i se aplică legislația privind tehnologiile ADN-ului recombinant, trebuie îndeplinite reglementări stricte înainte de aplicarea pentru uz uman și culturi.

șoareci gnotobiotici: Șoareci cu microbiotă intestinală nenaturală, modele în cercetare, crescuți și educați în condiții sterile și instilați cu microbiotă fecală străină sau specii bacteriene definite, șoareci de laborator pentru studierea funcțiilor microbiomului.

introni de grup II: ARN-uri mari catalitice de autosplicare și retroelemente mobile care codifică o transcriptază inversă, o proteină codificată de introni, colonizează genomul bacteriilor și al organitelor (mitocondrii și cloro-roplaste), sunt precursori ai transcriptazei inverse.

gypsy: denumirea unui retrotransposon foarte asemănător cu retrovirusurile, prezent la Drosophilla și echivalent cu Ty3 la drojdie, conțin LTR, gag, pol, nuclează, integază, dar nu conțin gena env; pot transfera gene.

VHB: virusul hepatitei B, pararetrovirus, se replică prin intermediul unei transcriptaze inverse, dar împachetează ADN, nu ARN, în particule de virus; provoacă în unele cazuri carcinom hepatocelular; există vaccin.

HCV: virusul hepatitei C, poate provoca în stadii avansate carcinom hepatocelular, există o nouă terapie, care elimină virusul cu mare succes, dar este costisitoare (50 000 de dolari).

HDV: Virusul hepatitei delta, infectează ficatul uman, o ribozimă, probabil de origine vegetală, împreună cu HBV boli grave, rare.

Herceptin: Terapie împotriva cancerului de sân, aplicabilă numai la 25% dintre pacienţii cu defecte în semnalizarea hormonală (receptorul EGF).

HERV: Retrovirus endogen uman, aproximativ 450 000 de copii în genomul uman, rareori formează particule infecţioase, nicio boală direct corelată, dar cu promotorii lor, LTR-urile, pot influenţa genele vecine, rol în cancer şi boli genetice cu frecvenţe necunoscute, relicvă a fostelor infecţii retrovirale ale celulelor germinale.

histonă: Proteină care împachetează ADN-ul în celulele eucariote, principalele proteine ale cromatinei care condensează ADN-ul, formând cromatina, acetilarea lor joacă un rol în reglarea epigenetică a genelor.

transfer orizontal de gene (HGT) sau transfer lateral de gene (LGT): Rolul proeminent al virușilor sau fagilor de a transfera gene de la o celulă sau un organism la altul; fiecare genom este format din gene de la multe alte specii care au fost dobândite prin HGT.

HPV: Human papillomavirus, în principal două dintre numeroasele tipuri pot provoca carcinoame ale colului uterin în decurs de câteva decenii, cu co-factori, vaccin disponibil recent pentru fetele tinere și în curând pentru băieți.

sistem imunitar: Apărarea celulelor şi a organismului împotriva agenţilor patogeni invadatori, în lumea ARN: silencer sau siRNA, în lumea ADN: endonucleaze de restricţie şi CRISPR/Cas9, în lumea proteinelor: interferon și IgG (imunoglobuline), toate sistemele imunitare folosesc foarfece moleculare asemănătoare RNazei H, elementele transpozabile cu enzimele lor joacă un rol major în dezvoltarea şi diversitatea imunoglobulinelor (anticorpi).

INRA: Institutul Francez de Cercetare în Agricultură, situat lângă Paris, printre fruntaşii analizei microbiomului.

intron: Cuvânt fuzionat de la „regiuni intragenice”, regiuni intermediare între exoni, genele sunt formate din exoni și introni, intronii nu codifică proteine, lipsesc la virușI, numai exonii conduc la proteine, transcriptele ARN ale genelor sunt prelucrate prin splicing care elimină intronii, permiţând numeroase combinaţii de exoni, cele mai abundente la om permit cea mai mare complexitate combinatorie, grupuri speciale sunt intronii cu autosplicare eliminaţi de ribozime autocatalitice, cataliză ARN, multe bucle în ac de păr, în ciuperci, plante, protişti sau bacterii, poate înrudite evolutiv cu spli-ceozomii.

Celule iPS: Celule stem pluripotente induse, fibroblaste adulte întinerite sau alte celule diferenţiate prin intermediul unui set de patru factori de transcripţie (Oct3/4, Sox2, Kif4 şi c-Myc) care induc proliferarea şi de-diferenţierea, unul dintre cei patru fiind proto-oncogenele „oncogenei” virale myc, celulele iPS sunt similare celulelor stem embrionare (ES), ambele cresc nelimitat şi îşi menţin pluripotenţa, celulele iPS înlocuiesc celulele ES în cercetare, a căror obţinere este interzisă. Celulele iPS pot fi transformate într-una dintre cele 200 de celule umane specializate, cum ar fi celulele creierului, celulele nervoase, celulele musculare, speranţa fiind de a regenera ţesuturi moarte sau bolnave pentru înlocuire.

IRX3: factor de transcripţie implicat în obezitate împreună cu FTO. genă saltătoare.

element transpozabil (TE): Transposon („taie şi lipeşte”) sau retrotransposon („copiază şi lipeşte”), se deplasează în interiorul nucleelor celulare, influenţând genomurile, elemente virale defecte fără înveliș, blocate în interiorul celulelor, 45% în genomul uman, saltul provoacă modificări ale materialului genetic, activitatea de salt este reglată de efecte epigenetice, poate fi

inovatoare sau periculoasă pentru genom și organism, controlată de mecanisme de silențiere (siRNA), care limitează mișcările.

Kit: Receptor tirozin kinază în celulele stem și, de asemenea, un oncogen într-un virus al pisicii. Kit joacă un rol la șoarecii cu coadă albă moșteniți prin paramutație și un rol în formarea dungilor la peștii zebră.

Lamarckism: Moștenirea proprietăților dobândite proclamată de botanistul și filosoful Jean-Baptiste Lamarck.

LFI: Loeffler-Frosch-Institut, cel mai mare institut de boli virale veterinare, la nord de Greifswald, în nordul Germaniei, doi dintre primii virusologi germani; în onoarea lor se acordă o medalie de virologie.

LINE sau LINE/LI: *Long interspersed nuclear element*, regiuni de ADN din genom, element transpozabil sau genă săritoare, care codifică două „cadre de lectură deschise” (ORF1 și ORF2) corespunzătoare a două proteine, o proteină de legare a ARN și o transcriptază inversă/endonuclază (asemănătoare RNazei H), retrotransposon care acționează prin „copy-and-paste” incluzând un ARN intermediar, o copie prin transcriptază inversă și nuclează și reinserția în ADN-ul gazdă, ducând la duplicarea genei, fără LTR, 850. 000 000 de copii în genomul uman (21%), ajută la proliferarea elementelor SINE, la om doar 100 de elemente LI sunt mobile, cu potențial pentru mutageneză și boli (unele neuronale), ARN de interferare mică (ARNsi) controlează și suprimă retrotranspoziția, LINE sunt motoare ale evoluției, susțin în mod activ inovația, sunt active și în celulele germinale, acolo sunt controlate de ARNpi, abundența retrotransposonilor face din transcriptaza inversă una dintre cele mai abundente proteine.

LTR: *repetiție terminală lungă* a retrovirusurilor și a unor retroelemente, unul dintre cei mai puternici promotori cunoscuți, care leagă factorii de transcripție, direcționează mașinăria celulară către replicarea virală, două LTR sunt generate în timpul replicării ARN-ului retroviral cu duplicare la terminațiile provirusului ADN, importante pentru integrare, pot promova, de asemenea, gene vecine și pot provoca cancer (mecanism de inserție a promotorului), pot fi lăsate ca „LTR-uri solo” în genom ca amprentă a retrovirusurilor șterse.

LUCA: Ultimul strămoș comun universal sau strămoș celular, prima celulă din cursul evoluției.

fag lytic: Fag care liziază gazda bacteriană din cauza stresului sau a altor factori de mediu, provocând derepresie, cu producerea unui număr mare de particule virale descendente, distrugerea gazdei bacteriene, spre deosebire de fagul „lizogenic”, în care ADN-ul fagului este integrat, cronic sau persistent.

metagenom: Suma tuturor genomurilor unui organism sau a oricărui eșantion sau ecosistem, ape uzate, fecale, plămâni etc.

MetaHit: *Metagenomics of the Human Intestinal Tract Consortium*, 13 centre de cercetare din 8 țări, 2008 până în 2012 de către Comisia Europeană, al 7-lea program-cadru, secvențierea tulpinilor bacteriene din tractul intestinal uman.

metastază: Celulă tumorală care părăsește contextul celular și se instalează în alte locuri ale corpului, celule tumorale deplasate care se dezvoltă în tumori în alte locuri, stadiu tardiv al cancerului.

microbiom: Descrie genomul colectiv al tuturor microbilor dintr-un anumit eșantion; la om, reprezintă de 10 ori mai multe celule bacteriene decât celulele corpului, incluzând aproximativ 5 milioane de gene bacteriene în plus față de cele 20 000 de gene umane originale, al doilea genom al nostru.

microbiotă: Se referă la comunitatea de microorganisme, denumită anterior (micro)floră, care populează un anumit habitat, cum ar fi intestinul, vaginul sau pielea, în mare parte omolog cu microbiomul.

mitocondrie, mitocondrie (pi): „Centrala electrică" a celulelor eucariote, furnizează energia chimică celulară, derivată dintr-o bacterie, preluată prin simbioză, cu pierdere de gene de până la 90 % și grad ridicat de specializare în schimb.

miR: Micro ARN derivat dintr-un precursor de ARN dublu catenar procesat de un complex proteic RISC cu foarfece moleculare (denumit Argonaute care cuprinde domeniile Paz și PIWI), care separă catenele, o catenă este aruncată, cealaltă se leagă secvențial de un ARN țintă care trebuie distrus. RISC este complexul de silențiere indusă de ARN.

MPI: Institutul Max Planck, institut de cercetare al Societății Max Planck, aproximativ 100 de institute diferite, în principal în Germania.

MRSA: *Staphylococcus aureus* rezistent la meticilină, de asemenea bacterie spitalicească multidrog rezistentă, pericol în creștere ca contaminare a spitalelor și amenințare pentru pacienți, creșterea numărului de decese.

Mu: Fag transpozabil, un model pentru transpozonul ADN și mecanismul de integrare retroviral, puternic mutagen (denumirea Mu), legat de retrovirusuri, a servit la identificarea inhibitorului integrazei HIV, cum ar fi Raltegravir.

mutant: Gena modificată genetic, spontan sau dobândit, posibil și experimental în eprubete, poate duce la rezistență împotriva terapiilor împotriva virușilor sau cancerului.

Myc: Oncogen viral de mielocistomatoză la pui, proto-oncogen ca factor de transcripție în celulele normale, supraexprimat în celulele canceroase (neuroblastom, plămân), conducând progresia ciclului celular, este un efector în aval al cascadei de kinaze, proteină de legare a ADN-ului, localizare nucleară, rol în reglarea ciclului celular, heterodimerizează cu o proteină mai scurtă Myc-related Max, modulând funcția.

Mycoplasma genitalium și Mycoplasma mycoides: Bacteria M. genitalium are unul dintre cele mai mici genomuri din natură, de 580.000 de perechi de baze și 482 de gene, primul genom bacterian sintetizat *in vitro* folosind numai substanțe chimice, dar până în prezent genomul sintetic nu s-a dovedit a fi funcțional într-o bacterie vie. Inactivând genele genomului natural una câte una și testând dacă *M. genitalium* se mai poate dezvolta, un proces de încercare și eroare exact așa cum procedează natura, au fost identificate 382 de gene esențiale și 100 au fost dispensabile. M. mycoides este a doua bacterie al cărei genom a fost sintetizat. Transplantul genomului său natural într-o celulă bacteriană înrudită golită a creat o bacterie care se comporta ca M. mycoides și era capabilă să se înmulțească. Mai nou, în 2016, a fost generată de Craig Venter o celulă sintetică viabilă cu replicare completă, chiar dacă crește lent, care cuprinde 473 de gene (dintre care 149 cu funcții necunoscute) și 531 000 de perechi de baze.

NASA: Administrația Națională pentru Aeronautică și Spațiu.

NIH: National Institutes of Health, autoritate americană în domeniul sănătății, cu sediul în Bethesda, Maryland.

non-coding: NcDNA sau ncRNA necodificator, fără triplete, deci fără informații pentru proteine, care nu codifică aminoacizii, adesea funcții de reglementare, informații structurale și interacțiuni de secvențe.

acid nucleic: Polimer compus din nucleotide, dezoxiribonucleotide sau ribonucleotide, formând ADN, respectiv ARN, sunt posibile chimere, monocatenar sau bicatenar, liniar, circular, genomuri fragmentate.

nucleotidă: (nl) desemnată și ca bază sau pereche de baze (în cazul lanțului dublu), element constitutiv al acizilor nucleici, ribonucleotide în cazul ARN, deoxiribonucleotide sau deoxinucleotide pentru ADN, constă dintr-o moleculă de zahăr (riboză sau dezoxiriboză) și una dintre cele patru baze, adenină (A), timină (T), guanină (G), citozină (C) pentru ADN și A, uracil (U, în loc deT), G, C pentru ARN.

oncogen: Gena cancerigenă sau tumorală a retrovirușilor, cum ar fi src, raf, ras, myc, aproximativ 100 de proto-oncogene celulare modificate cunoscute, adesea gene de promovare a creșterii sau regulatoare ale genelor (factori de transcripție), oncogenele ARN sunt micro ARN (miR), de asemenea antigenul T al SV40, un virus ADN.

paramutație: Moștenirea informației genetice fără mutații, moștenire nemendeliană, prin urmare desemnată drept „paramutație”, descrisă pentru prima dată de Royal Alexander Brink, în centrul atenției noilor cercetări, efectele transgenerațională sau paragenetice sunt distincte de epigenetică, deoarece sunt mai durabile și ereditare, prin modificări ale ambalajului cromatinei, trăsături la C. elegans menținute timp de 30 de generații, există la plante, descrisă la șoareci, nu se știe să existe la om, teoria lui Lamarck (moștenirea proprietăților dobândite).

pararetrovirus: Virus ADN, utilizează transcriptaza inversă pentru replicare, cum ar fi virusul hepatitei B (HBV), virusul plantelor virusul mozaicului conopidei sau virusurile spumoase, formează un ARN pregenomic mare în interiorul celulelor.

PAZ: Domeniu proteic (cu o lungime de aproximativ 110 A A), legat de transcriptaza inversă retrovirală, denumire bazată pe trei proteine care conțin acest domeniu (PIWI, Argonaute și Zwille), componentă a complexului de silențiere indusă de ARN (RISC).

PCR: Reacția în lanț a polimerazei, metodă foarte sensibilă de amplificare a moleculelor de ADN, poate fi utilizată în diagnostic pentru detectarea acizilor nucleici, inclusiv a mutațiilor, permite cuantificarea ADN-ului, realizată într-un termociclator, un aparat în care o probă care conține ADN este mai întâi topită pentru a o face monocatenară și apoi copiată cu ajutorul unei enzime ADN polimerază pentru a genera lanțuri duble din fiecare lanț (cu ajutorul unui starter/primer). Topirea și copierea se repetă de 20 până la 60 de ori și vor amplifica exponențial numărul de copii (1, 2, 4, 8, 16 etc.) O reacție cantitativă care include în prealabil transcrierea inversă a ARN în ADN, ca de exemplu pentru detectarea ARN HIV, este „qRT-PCR”, o metodă de analiză utilizată foarte frecvent. O ADN polimerază rezistentă la căldură este Taq-polimeraza, Taq reprezentând bacteria Thermus aquaticus, care a îmbunătățit eficacitatea PCR.

Domeniu PDZ: Modul proteic găsit în unele supresoare tumorale care se leagă de motive hidrofobe terminale de aminoacizi, Src are un astfel de motiv de legare PDZ, dacă este mutat Src pierde contactul cu proteinele care conțin domeniul PDZ și celulele devin metastatice.

PDZ: P de la PSD95 (densitate post-sinaptică), D de la discuri mari în Drosophila şi Z de la zonula occludens - toate cele trei proteine sunt supresoare tumorale.

PEP: profilaxie post-expunere, necesită terapie antiretrovirală în interval de 4 până la 24 sau 72 de ore, în funcţie de medicament, pentru a preveni infectarea cu HIV în ciuda contactelor sexuale ("morning-after-puT).

peptidă: proteină scurtă.

fag sau bacteriofag: Majoritatea virusuri cu ADN bicatenar ale bacteriilor, pot avea vârfuri, se pot integra ca ADN profag în genomul gazdei (ciclu temperat sau lizogen) sau pot deveni episomali părăsind ADN-ul gazdei şi lizând bacteriile (ciclu litic) pentru replicarea virusului/fagului, cel mai abundent tip viral, în oceane, sol, aer etc.

Phagoburn: Programul UE. Cadrul 7: Obiectivul principal al Phagoburn este de a evalua siguranţa, eficacitatea şi farmacodinamica a două cocktailuri terapeutice de fagi pentru tratarea infecţiilor provocate de arsuri provocate de Escherichia coli sau Pseudomonas aeruginosa. Din 2013 până în 2016. Phoenix: Un retrovirus derivat din secvenţe retrovirale endogene celulare, dovedind că secvenţele endogene sunt într-adevăr derivate din retrovirusuri care au dispărut. Viruşii endogeni pot proteja împotriva virușilor exogeni. Retrovirusul endogen uman HERV-K(HML-2), înrudit cu retroviruşii şoarecilor, poate forma particule şi infecta animalele şi se poate replica, Phoenix a fost generat din secvenţele HER-K(HML-2) de Thierry Heidman, virus vechi de 3 milioane de ani, 8% din genomul uman sunt rămăşiţe ale HERV-urilor, dar au devenit inactive cu mult timp în urmă prin mutaţii.

phycodnavirus: Virus gigant, mare virus icosaedric cu ADN dublu catenar al algelor (phyco), diversitate genetică imensă, poate fi litar şi lizogenic, virusurile Chlorella pot distruge proliferarea algelor, cum ar fi „Red Tide", probabil menţionată în Biblie, care afectează procesele ciclului geochimic şi modelele meteorologice, nu se cunoaşte patogenitatea pentru om.

piRNA: PIWI-interacting RNA, PIWI este o enzimă de tip foarfecă a RNazei H, care clivează retrotransposonii din celulele germinale împiedicând activitatea transposonilor (saltul), formează un complex ARN-proteină, piRNA are între 26 şi 31 de nucleotide, mai mare decât siRNA sau microRNA tipic (21 de nucleotide), se transmite prin spermă, este prezent în celulele germinale, unde piARN contracarează formarea retro-transposonilor, de aceea se numeşte „gardianul genomului"; dacă piARN este absent, sperma este infertilă, ceea ce duce la para-mutaţie sau moştenire transgenerațională non-mendeliană.

PIWI: wP-element-induced wimpy testis", iniţial la Drosophila, proteină, enzimă asemănătoare RNazei H care se leagă de acizii nucleici dublu-catenari sau de hibrizii ARN-ADN, scindează fracţiunea ARN din hibrizi sau un singur lanţ de ARN din lanţurile duble pentru silenţierea ARN, ARN poate proveni din infecţii (viruşi) sau din regiuni endogene de ARN necodificator ca ARN reglator, RNase H este o proteină Argonaute în complexul RISC de silenţiere indusă de ARN pentru silenţiere, exprimată în spermatogeneză în testiculele mamiferelor dar şi în celulele ovariene, poate rezulta din retrotransposoni, alt nume este rasiRNA (repeat-associated small interfering RNA), PlWI-interacting RNA sau piRNA este considerat a reduce la tăcere retrotransposoni, inhibă saltul pentru a preveni interferenţa retrotransposonilor cu formarea celulelor germinale, sunt candidaţi pentru modificări transgeneraționale sau paramutaţionale prin alterări ale cromatinei şi prezente în celulele germinale şi spermă, asociate astfel cu o formă ereditară de RNA, piwiRNA sau piRNA. Astfel, sunt descrişi drept „gardienii genomului".

placentă: A se vedea sincitină, strat celular care separă sistemul imunitar al mamei de embrion. plasmidă: ADN circular cu două catene, gol (fără proteine asociate, a se vedea cromatina), aflat în interiorul celulelor (în principal bacterii), care poate transfera gene de la o celulă la alta; un exemplu este plasmidul Ti al Agrobacterium tumefaciens, care induce tumori la plante și care stă la baza terapiei genice a plantelor; vaccinurile cu ADN plasmidic codifică proteine/antigene care sunt produse de receptor după injectare.

ornitorinc: Singurul mamifer care depune ouă în loc să nască, are un cioc asemănător raței și o coadă asemănătoare castorului, endemic pe coasta de est a Australiei, aproape de dispariție.

polivirus ADN: Polidnavirus, virus de insectă purtând 30 de plasmide ADN ale ADN-ului gazdei care codifică toxine și alte proteine, se află într-o relație simbiotică cu specii de viespi, particula de virus nu conține genomul viral, care în schimb este integrat în genomul viespilor, virusul este transmis împreună cu ouăle de insectă care sunt depuse în omizi vii, ajută la hrănirea larvelor de viespe prin distrugerea omizilor ca hrană prin intermediul genelor toxinelor transportate, ceea ce seamănă cu mecanismul vectorilor virali de terapie genică.

polimerază: Enzimă pentru sintetizarea (polimerizarea) biopolimerilor, cum ar fi acizii nucleici, necesară pentru replicarea ADN sau ARN în celule sau viruși, transcriptaza inversă este specificată ca ADN polimerază ARN-dependentă.

reacție în lanț a polimerazei: Vezi PCR.

prebiotic: Vezi probiotic.

supă primordială: Termen inventat de Charles Darwin, descrie condițiile de mediu de la începutul Pământului în care au apărut primele biomolecule și viața, poate conține, conform lui John Sutherland, cianură de hidrogen, hidrogen sulfurat, fosfat și apă, care împreună cu o sursă de energie, cum ar fi lumina ultravioletă, pot da naștere elementelor de bază pentru viață, cum ar fi aminoacizii și acizii nucleici și lipidele.

prion: Cuvânt fuzionat compus din „proteină și infecție”, un agent infecțios proteic lipsit de acizi nucleici „numai proteină”, proteinele prion prezente în mod natural în creier se pot plia greșit din cauza unor factori de mediu sau genetici sau a infecției cu alți prioni pliați greșit, plierea greșită duce la agregare și la boli neurodegenerative. Proteinele prionice sănătoase, numite PrP, au structuri diferite față de pliurile care cauzează boli (PrPSc după boala scrapie la ovine care este cauzată de prioni pliați greșit), conținând mai multe foițe beta și mai puține spire alfa. Premiul Nobel acordat lui Stanley Prusiner în 1997, poate infecta oamenii prin carne contaminată, a cauzat „ESB” pentru encefalopatia spongiformă bovină (boala vacii nebune), sau kuru (anterior în triburile din Papua Noua Guinee din cauza canibalismului) sau scrapie la oi, denumirea generală pentru boala prion este EST (encefalopatia spongiformă transmisibilă).

probiotic: Adesea bacterii vii în iaurt sau produse lactate introduse în intestin, în schimb, prebioticele sunt fibre vegetale specializate nedigerate care acționează ca îngrășământ pentru bacteriile bune care sunt deja acolo.

procariote: Celulă fără nucleu, bacterii și archaea, în contrast cu celulele eucariote care conțin un nucleu.

profag (ADN-): Un ADN intermediar în ciclul de viață al fagilor ADN care este integrat în ADN-ul gazdei bacteriene.

proteină: Compusă din aminoacizi, componentă principală a ființelor vii formând mușchi, piele, organe etc. - o friptură sau ouăle în tigaie pentru mâncare sunt în principal proteine compuse din aminoacizi, proteinele scurte sunt numite peptide, proteinele cu activitate catalitică sunt enzime, doar 2% din genomul uman codifică pentru proteine.

protist: Organisme eucariote microscopice unicelulare, inclusiv unele alge, mucegaiuri slime, incluzând uneori și anumite eucariote multicelulare și microbiene, grupare informală a diverselor organisme eucariote cu excepția animalelor, ciupercilor și plantelor.

provirus (ADN-): ADN intermediar al retrovirușilor ca etapă esențială în timpul replicării, se integrează în ADN-ul celulelor gazdă în locuri aleatorii și este moștenit în timpul diviziunilor celulare, denumirea se referă la ADN-ul profag.

PrEP: Profilaxie preexpunere, protecția persoanelor sănătoase prin terapie antiretrovirală pentru a preveni infectarea de către partenerii seropozitivi.

RISC: Complex de silențiere indusă de ARN cu Argonaute (a se vedea mai sus) care scindează ARN pentru silențiere.

quasispecie: Populație de molecule de ARN strâns înrudite, dar distincte, asemănătoare roiurilor, tipică virusurilor care conțin ARN cu frecvențe ridicate de mutații, cum ar fi HIV și virusurile gripale.

Raf: Oncogen al virusului fibrosarcomului de șobolan, derivat din homo-logul celular c-Raf, o serină/treonină kinază, un nou tip de oncogen la momentul descoperirii (de către K. Moelling), c-Raf este activat de kinazele din amonte și o componentă a cascadei de semnalizare kinazică mai degrabă universală Ras-Raf-MEK-ERK. În cancerele umane, o formă parțial activată, B-Raf, este acum ținta mai multor medicamente noi, frecvente în melanoamele maligne și alte tipuri de cancer, heterodimerizează cu c-Raf. C-Raf activat poate duce la cancer, dar și la diferențiere și stoparea creșterii. Acest comportament de tip Janus este valabil și pentru alți oncogeni și reprezintă o complicație pentru terapii, care pot duce la efectul opus, activarea în loc de inhibarea creșterii tumorale.

RAG 1 și 2: Gena de activare a recombinării, conduce la diversitatea imunoglobulinelor V(D)J prin recombinare, înrudită cu transpozonii și cu enzimele de clivare RXases H, adăpostind cei trei aminoacizi acizi distinctivi, DDE responsabilă de clivare.

Ras: Oncogenă a retrovirusului pentru sarcomul de șobolan derivat din homo-logul celular c-Ras, dimensiune 20 kD, izolate H-Ras (Harvey) și Ki-Ras (Kirsten), numele oamenilor de știință, este în mod normal o enzimă GTPază care hidrolizează GTP în GDP, dacă este mutantă (G12V, glicină în valină în codonul 12) este dereglementată și constitutiv activă, activând cascadele de semnalizare ale kinazelor din aval (Ras-Raf-MEK-ERK) și proliferarea celulară, cel mai frecvent oncogen în tumorile umane. Mai mult de 30 % din cancerele umane sunt determinate de Ras oncogenic. Dificil de tratat deoarece ar fi afectate prea multe molecule efectoare din aval. 30 de ani de cercetare nu au condus la inhibitori, Institutul Național al Cancerului, SUA, a lansat un nou program de cercetare în 2014, http://www.cancer.gov/research/key-initiatives/ras/the-problem.

Ras-Raf-MEK-ERK: Cascadă majoră de semnalizare formată din proteine kinaze, de asemenea cascadă de kinaze MAP (MAP pentru mitogen-activated protein, descrisă și ca Ras-MAPKKK-MAPKK-MAPK cu K indicând kinaza) care transferă fosfați de la o kinază la următoarea kinază pentru activarea în aval ca răspuns la stimuli extracelulari prin intermediul receptorilor tirozin kinaze, cum ar fi mitogenii, stresul, căldura, citokinele proinflamatorii, conducând la efecte

pleiotropice precum proliferarea, expresia genică, diferențierea, mitoza, supraviețuirea celulară și apoptoza în funcție de stimulii și factorii celulari și de mediu. Cascadele permit mecanisme de feedback pozitiv și negativ și o semnalizare complexă. Ras are numeroase ținte în aval, Raf în principal doar una, prin urmare o țintă utilă pentru intervenție, care transmite semnalul din exteriorul celulei către nucleu pentru a influența expresia genică, **MEK**: kinaza externă activată de mitogen, **ERK**: kinaza reglată de semnalul extracelular care duce la fosforilarea factorilor de transcripție, cum ar fi c-Myc, care duce la reglarea genelor și a programelor celulare.

recombinant: Abreviat cu „r”, înseamnă că o proteină a unei specii este produsă prin tehnologie genetică într-un alt organism, metodă de producere a unor noi produse terapeutice, utilizată pentru noi culturi, reglementată de legislația privind organismele modificate genetic, OMG.

recombinare: Un mecanism natural de combinare nouă a ADN-ului, de asemenea, în condiții de laborator, combinarea fragmentelor de ADN printr-o procedură numită clonare.

ARN reglator: Adesea ncRNA necodificator mic, reglează genele prin activarea metiltransferazelor care atașează grupări metil la ADN sau acetilează cromozomii și modifică expresia genelor, adesea din cauza factorilor de mediu, ceea ce duce la efecte epigenetice, tranzitorii doar pe durata de viață a unui organism și, în mod normal, nu sunt moștenite la generația următoare, descoperit pentru prima dată la porumbul multicolor de Barbara McClintock.

RELIK: Rabbit endogenous lentivirus type K, un retrovirus complex (precum HIV) care a fost integrat în mod stabil (endogenizat) în genomul iepurilor gazde, descris de Aris Katzourakis, vârsta evolutivă minimă de 12 milioane de ani.

retrotransposon: Elemente genetice mobile sau gene săritoare în urma mecanismului copy-and-paste care implică o etapă de transcriptază inversă, înrudite cu retrovirusurile fără înveliș care nu părăsesc celula, ducând la duplicarea genelor, o etapă importantă în evoluția genomurilor celulare, cod pentru RT, RNază H, integrază, protează, flancate de LTR-uri, 8% din genomul uman corespunzător a 450 000 de copii sunt HERV-uri plus retrotranspozoni; retrotranspozoni fără env rari în genomul uman, dar abundenți în genomurile plantelor, drojdiei și insectelor”, adesea denumiri fanteziste, cum ar fi Gypsy sau Copia sunt retrotranspozoni la muștele Drosophila și Ty3 la drojdie (sau Tyl-Ty5), Sleeping Beauty sau Mariner la pești, Lotus la plante, Tn la bacterii, Transpozonii și retrotranspozonii ADN sunt așa-numitele „elemente genetice egoiste” sau „gene săritoare” care trebuie „îmblânzite” sau controlate prin reducerea la tăcere prin mecanisme siARN cu foarfece moleculare pentru clivare, controlul special al TE în celulele germinale are loc prin piARN (ARN de interacțiune PlWI). Numărul de retrotranspozoni poate fi mare: 150 000 până la 250 000 în genomul porumbului.

retrovirus: Virus ARN cu două genomuri virale identice de ARN plus-catenar, se replică printr-un ADN intermediar esențial, provirusul ADN, care se integrează în mod normal în ADN-ul genomic al gazdei, codificând pentru aproximativ 10 gene, gag (pentru structură), pol (pentru replicare cu RT, RNază H, Integrază și Protează) și env (pentru proteinele de acoperire), și mai multe gene auxiliare pentru reglarea replicării, în principal în HIV, pot prelua gene celulare, care sunt transduse de virus ca oncogene în alte celule, bază pentru cercetarea cancerului, pot fi, de asemenea, manipulate pentru preluarea genelor terapeutice ca bază pentru terapia genică, au promotori puternici, repetițiile terminale lungi (LTR), pentru a activa genele virale, dar și genele celulare vecine.

transcriptază inversă sau RT: ADN polimerază ARN-dependentă, descoperită ca enzimă de replicare a retrovirusurilor, dar de importanță aproape universală, care transcrie ARN în ADN dublu catenar, care se integrează în genomul gazdei, este adesea fuzionată cu o nuclează, ribonuclaza H

sau RNase H care elimină ARN-ul viral după transcrierea inversă din hibrizii ARN-ADN, permițând astfel producerea mai întâi a unui ADN monocatenar și apoi a unui ADN bicatenar, utilizată și de pararetrovirusuri, cum ar fi hepatita B la om sau de virusuri vegetale, cum ar fi virusul mozaicului conopidei, și virusul Foamy al maimuțelor, enzimă foarte universală, prezentă în bacterii, plancton și drojdie, cu rol posibil esențial în cursul evoluției ca generator sau „inventator” al ADN-ului, utilizată de retrotranspozoni, este prezentă în bacterii cu mii de copii cu funcții necunoscute, prezentă și în câțiva fagi, enzimă predispusă la erori care determină un efect mutagen ridicat (cvasi-specii), ceea ce duce la inovație, dar și la scăparea de terapiile cu rezistență la medicamente și de vaccinuri, este vizată de mai multe terapii antivirale. Cea mai răspândită enzimă din biosferă datorită cantității mari de elemente transpozabile care codifică transcriptazele inverse, 13,5 % din genomurile colective din eșantioanele oceanice, 5 % din genomul uman, în principal datorită RT ale retrovirusurilor endogene și liniilor.

ribonucleasă H: A se vedea, de asemenea, aceeași RNază H, enzimă care degradează în mod specific șirul ARN al hibrizilor ARN-ADN în timpul replicării retrovirale sau retrotranspoziției, există multe forme înrudite, PIWI sau Cas9.

ARN ribosomal: Componentă a ribozomilor, secvența este baza pentru clasificarea diferitelor tipuri de bacterii, definită și ca ARNr 16S/18S (ARN ribozomal) sau la nivelul ADN-ului ARNr, 16S la bacterii, 18S la celulele eucariote. ribozomii sunt ribozomi: Sinteza proteinelor în ribozomi depinde de vechea ribozimă, slogan: „ribozomii sunt ribozime”. ARN catalitic, componentă activă care unește aminoacizii.

ribozimă: mic ARN circular activ enzimatic cu structură în buclă de ac de păr, uneori inactiv, de asemenea ca viroizi în plante, un singur tip este prezent în ficatul oamenilor ca virusul hepatitei delta (HDV), de asemenea legat de ARN circular sau circ.

RISC: Complex de silențiere indusă de ARN, foarfecă moleculară într-un complex proteic pentru scindarea ARN, generând ARN interferant mic (ARNsi sau ARNi), RISC este format din proteina argonaute cu domeniile numite PAZ și PIWI (înrudite ca structură și funcție cu transcriptaza inversă și RNaza H din retrovirusuri).

ARN: Mesager (mRNA), de transfer (tRNA), necodificator (ncRNA), de interferență mică sau silențios (siRNA), de interferență (RNAi), necodificator lung (IncRNA), necodificator intergenic lung (lincRNA) din regiunile dintre gene, Piwi-interacting RNA (piRNA) sau PIWI-RNA în celulele germinale, spermă și embrioni, circular (circARN), microARN (miR) oncogen, siARN asociat cu rep eat (rasiARN) controlează retrotransposonii în celulele germinale, cum ar fi piARN, ribosomal (ARNr), ARNr 16S pentru procariote, ARNr 18S pentru eucariote,

RNază H: Ribonuclaza H, enzimă care clivează și elimină ARN din hibrizii ARN-ADN în timpul replicării retrovirale, foarfecă moleculară, elimină, de asemenea, primeri ARN după inițierea sintezei ADN în celulele eucariote, RNaza H virală elimină ARN retroviral după transcrierea inversă în ADN, RNazele H1 și 2 A,B,C în celulele umane, RNazele HI și HII în bacterii, familia mare cuprinde, de asemenea, integrase, dicer, PIWI din argonaute în RISC cu siARN, RAG1/2 (recombination-activating genes 1/2) necesară pentru recombinarea V(D) J pentru producerea de anticorpi, endonuclaza RuvC, Cas9 pentru clivarea ADN-ului în hibrizi ARN-DNA (ca „DNază H”) sau siDNază, sau în Prp8 pentru splicing, cel mai abundent pliu proteic din natură (a se vedea Moelling și Broecker, NYAS 2015), RNase H are cinci elice alfa și cinci foițe beta și trei aminoacizi care leagă un ion de magneziu pentru a menține structura, doar triada DDE din aproximativ o sută de AA sunt conservate; această triadă este semnul distinctiv al foarfecelor moleculare dacă se caută membri înrudiți ai familiei, dar distanțele dintre ei variază.
RT: Abrevierea transcriptazei inverse.

Şoareci SCID: Șoareci cu imunodeficiență severă combinată cu un defect genetic, un model animal pentru analiza celulelor tumorale umane, care pot fi cultivate în aceşti şoareci fără a fi respinse, pot purta sisteme imunitare umane sau celule hepatice fetale umane care pot fi infectate cu HIV, ca modele animale.

Şoareci SCID-NOD: Șoareci SCID (severe combined immune deficient) și șoareci diabetici non -obezi. Model de șoarece de laborator pentru studiul țesuturilor străine, care nu sunt respinse.

silencing siRNA: Oprirea (reducerea la tăcere) expresiei genelor în complexul de reducere la tăcere indusă de ARN (RISC) care este responsabil de clivarea ARN-ului vizat, cunoscut și sub denumirea de interferență ARN sau RNAi. Complexul de clivare RISC este format din proteina Argonaute și diferite clase de ARN mici necodificatori. ARN mic, numit și siARN sau ARN silențios, ghidează enzima Argonaute către ARNm complementari și induce clivarea, ceea ce inhibă expresia genelor (nu se produc proteine prin inhibarea traducerii), Argonaute conține un domeniu PIWI, o foarfecă moleculară pliată de RNază H, siARN reglează ARN celular sau viral, apărare antivirală, face parte din sistemele imunitare și la plante, există la C. elegans și este, de asemenea, un sistem slab de apărare antivirală la om.

SINE: Small interspersed nuclear element, element transpozabil (TE), element ADN din genomul uman, fără RT, fără LTR, mai mic decât LINE, utilizează adesea transcriptaza inversă din LINE pentru a se multiplica în genom, cuprinde elemente Alu, 1. 5 milioane de copii în genomul uman (13%).

Mecanismul siARN de reducere la tăcere: ARN mic de reglare sau de silențiere, provine din ARNm sau ARN viral dublu catenar intermediar prin procesare și clivare de către Drosha (foarfecă moleculară), exportat în afara nucleului, procesat în continuare de RISC la aproximativ 22 de nucleotide, care elimină un ARN din dublu catenar, care se leagă de un ARN țintă cu secvență înrudită și clivează ARN-ul, și elimină traducerea și expresia proteinelor, și provoacă „silențierea” genei sau knock-out-ul complet al unei gene, două efecte de silențiere: în primul rând silențierea transcripțională a genelor (TGS), acționând asupra promotorului printr-o metilare indusă de ARN și blocând astfel promorul și expresia genică și, în al doilea rând, prin silențierea posttranscripțională a genelor (PTGS), prin legarea la ARNm transcris al unei gene și clivarea acestuia ducând la silențierea expresiei genice și oprirea traducerii.

Frumoasa adormită: Numele unui transposon reconstruit prin modificări genetice de la pești, dezvoltat pentru terapia genică.

solo LTRs: Recombinarea omoloagă duce la ștergerea regiunilor dintre cele două LTR lăsând una în urmă, poate activa gene vecine. Aproximativ 400.000 în genomul uman.

splicing: Este o combinație a diferitelor regiuni ale unui ARNm la eucariote, exonii prin ștergerea secvențelor intermediare, adesea intronii care nu codifică proteine prin excluderi de ARN cu bucle de tip lariat, necesită o combinație fără noduri astfel încât ribozomii să poată traduce noile secvențe de ARN în proteine, important pentru creșterea complexității și varietăților genomice, cel mai important pentru complexitatea genomului uman.

Src: Primul oncogen descris, model, în RSV (Rous sarcoma virus) la găini, sarcom, nu atât de frecvent în cancerele umane.

celule stem, totipotente: Cele mai versatile din ouă fertilizate *in vitro*, se pot dezvolta în orice tip de celulă umană după 4 zile, se dezvoltă în celule stem pluripotente, care pot duce și la toate tipurile

de celule, dar nu la un organism întreg, celulele stem multipotente sunt mai puțin versatile, dau naștere la o gamă limitată de celule, celulele stem adulte sunt multipotente, înlocuiesc celulele adulte care au murit sau și-au pierdut funcția, este o celulă nediferențiată într-un țesut diferențiat (cum ar fi creierul, sângele, mușchii etc.): Conducerea HIV la sinucidere cu o bucată sintetică de ADN pentru a forma un hibrid, care activează RNaza H virală și distruge infectivitatea virală, desemnat și ca siDNA (small interfering DNA, K. Moelling). Este o etapă normală în timpul replicării, dar poate fi activată prematur și în particulele virale. Editorialul Nature Biotechnology a inventat cuvântul „sinucidere". Dezvoltare ca microbicid pentru prevenirea transmiterii HIV în timpul actului sexual. ADN-ul este direcționat către tractul polipurinic, PPT, și formează un G-tetrad care permite absorbția virală. RNaza H virală nu poate fi inhibată de medicamente până în prezent. Aceasta este o abordare de activare pentru terapia împotriva HIV.

simbioză: Coexistența a două sau mai multe specii cu interdependență de lungă durată, exemple proeminente sunt mitocondriile, foste bacterii în celulele mamiferelor, câștig pentru ambele (mutualism), adesea reducerea genelor în beneficiul specializării. Unele modele sugerează că archaea ar fi fuzionat cu bacteriile prin endosimbioză, conducând în cele din urmă la celulele eucariote.

sincitină: Proteină capturată a învelișului retroviral asociată cu structura placentară unică a omului și a altor mamifere, rumegătoare, stratul celular format din sincițiotrophoblaste separă mama de făt la om, ceea ce face ca depunerea ouălor să devină caducă, acum peste 30 de milioane de ani, proprietățile fuzogene ale proteinei de înveliș sunt similare cu cele ale HIV, unde formarea de sinciții duce la formarea de celule gigantice prin fuziune, un test indicator pentru HIV, în lumea animală sunt cunoscuți 18 membri ai familiei syncytin, toți derivați din retrovirusuri diferite, protejează embrionii în creștere de respingerea imunitară de către mamă.

Tara Oceans Expedition: Tur de explorare pe mare realizat de Organizația Europeană de Biologie Moleculară (EMBO), din 2009 până în 2013, prin toate oceanele, cu 35 000 de eșantioane de plancton prelevate din 200 de stații, 40 de milioane de gene, majoritatea necunoscute, 5 000 de populații virale în oceanele superioare, a se vedea Science, mai 2015.

TE: Elemente transpozabile de toate tipurile, de asemenea gene săritoare.

telomerază: O transcriptază inversă telomerică (TERT) care poartă propriul ARN scurt ca șablon endogen și îl copiază de până la o mie de ori, alungind astfel ADN-ul sau capetele cromozomiale (telomerii), activă în timpul embriogenezei și în tumori, într-o celulă normală, activitatea telomerazei este oprită și cromozomii sunt scurtați la capete cu fiecare ciclu de diviziune celulară, un ceas molecular, țintă pentru terapia anticancerigenă sau împotriva îmbătrânirii, îmbătrânirea nu este sincronă în diferite celule, astfel încât lungimea telomerică nu este un marker predictiv pentru speranța de viață a unui organism.

fag temperat: Fag non-litic, moderat, își integrează ADN-ul în ADN-ul gazdei bacteriene ca ADN-profag, poate fi indus de stres pentru a deveni lytic prin pierderea unui supresor care permite replicarea progeniturii și perturbarea (lizarea) celulei.

cronologie: 14 Bio (miliarde de ani în urmă): Big Bang, 4,5 Bio: formarea Pământului, până la 4 Bio: bombardamente grele târzii și coliziuni cu impact gigant, care au generat Luna, 4 Bio: primele biomolecule, 580 Mio (milioane de ani): viață multicelulară complexă, 540 Mio: Explozia cambriană cu diversificarea vieții, 380 Mio: primele vertebrate și animale, 230-65 Mio: dinozaurii, 65 Mio: impact cosmic provocat de un asteroid în Yucatan (actualul Mexic) cu extincția în masă și uciderea dinozaurilor, 3,2 Mio: Lucy din Africa, 0,2 Mio: Homo sapiens, 200 000 - 40 000: Neanderthalieni.

Plasmidă Ti: Plasmidă de ADN circular cu două catene inducătoare de tumori de la Agrobacterium tumefaciens utilizată pentru terapia genică la plante, poate transfera gene terapeutice.

genetică transgenerațională: A se vedea, de asemenea, paramutație, modificări chimice epigenetice moștenite ale genelor și cromatinei fără mutații, induse de indicii de mediu, mai durabile decât modificările epigenetice timp de câteva sau chiar multe generații, memoria la C. elegans este indusă de piRNA timp de 30 de generații, amintindu-și mirosurile de etanol și hormoni sexuali, există, de asemenea, la plante și șoareci - la om nu este sigur - subiect de cercetare: cum bunicii obezi au nepoți obezi.

transposon sau element transpozabil (TE): Gena săritoare, cuprinde toate tipurile de elemente, cum ar fi retroelemente sau ADN transpozoni, cu mecanismele: ”cut-and-paste” care provoacă două evenimente genotoxice și «copy-and-paste», un retrotransposon, un singur eveniment genotoxic cu duplicarea genei, TE în genomurile umane aproape 50%, porumb 49 la 78%, grâu 90%, C. elegans 12%: Trei nucleotide din ARNm formează codonul, fiecare codon este specific pentru un AA, sunt asamblate pe ribozom cu ARNm ca matrice pentru sinteza proteinelor, ARN codificator conduce la proteine, ARN necodificator (ARNnc) are funcții de reglare.

tumor sau T-antigen: Oncogen în virusuri ADN mici, cum ar fi virusul simian 40 (SV40) sau poliomavirusul (Py), în mod normal nu este relevant pentru cancerul uman, dar este un sistem model de cancer în laborator, provoacă cancer prin integrarea virusului.

supresor tumoral: Gene și proteine cu funcție antiproliferativă, pierderea lor contribuie la apariția cancerului, inhibă creșterea unei celule, contracarează oncogenele, este adesea eliminată de proteinele oncogene care sporesc tumor-origenitatea, pierderea supresorilor tumorali este adesea un eveniment-cheie în formarea tumorilor și înlocuirea lor prin terapie genică are un oarecare succes împotriva cancerului. Virusurile pot elimina proteinele supresoare de tumori pentru a prelungi durata de viață a celulei și pentru a crește numărul progeniturilor virale.

viroid: Ribozimă mică, ARN stabil, închis, în formă de ac de păr, în prezent cu aproximativ 350 de baze, adesea activ din punct de vedere catalitic, prima biomoleculă de pe planeta noastră, formată în urmă cu 3,9 miliarde de ani, în prezent în principal în plante, provocând daune culturilor, virusul hepatitei delta, singura ribozimă umană cunoscută. Element de tip virus gol, fără funcție de codificare a proteinelor, dar care interacționează cu alți acizi nucleici, înrudit cu circARN-ul reglator recent descoperit și prezent în toate celulele umane ca principal regulator care titrează siARN-urile. Viroizii sunt discutați aici ca fiind cele mai timpurii biomolecule cu proprietăți asemănătoare virusurilor, ceea ce conduce la ideea că virusurile sunt cei mai vechi strămoși ai noștri și nu au înveliș proteic.

virome: Toți virușii prezenți împreună într-un eșantion sau ecosistem, fără cunoașterea virușilor individuali.

virofag: Un virus care infectează un alt virus în analogie cu bacteriofagul (virusul bacteriilor), prezent în virușii giganți, făcând viruși la gazdele virușilor și apariția unor entități asemănătoare celulelor, numele virofagilor sunt Sputnik, sau Ma virus în virușii giganți, genomuri de ADN bicatenar mici, de aproximativ 20.000 pb, pot distruge gazdele virușilor giganți.

virus: Element mobil, adesea compus din gene cu sau fără proteine, „numai proteinele” sunt prioni (care nu sunt în general acceptați ca viruși, dar ar putea fi incluși), transport de informații genetice sau structurale, transmitere orizontală și verticală prin celule somatice și/sau germinale, multe mecanisme de replicare fără legătură, cea mai mare diversitate genetică de pe planetă, adesea foarte variabilă prin mecanisme de replicare predispuse la erori, ceea ce duce la cvasi-specii cu mulți

mutanți existenți simultan. Virusurile ADN sunt mai stabile din punct de vedere genetic decât virusurile ARN, virusurile sunt lipsite de ribozomi, cu excepția unor virusuri gigantice, și depind de furnizarea de energie de către celule. Un astfel de parazitism poate fi o realizare târzie în cursul evoluției. Moleculele de ARN, cum ar fi ribozimele, viroizii, sunt cele mai vechi biomolecule, necodificatoare pentru proteine (încă), se pot replica fără celule, dar au nevoie de energie. În prezent, virușii au nevoie de celule pentru sinteza proteinelor. Virusurile sunt motoare ale evoluției și au construit genomurile noastre, furnizând în special apărarea antivirală (sistemele imunitare). Aproximativ 50% din genomurile umane sunt legate de elemente de retrovirus, dar este posibil să fi fost mult mai multe. Ele pot reprezenta începutul vieții și al evoluției. De asemenea, prionii compuși numai din proteine și ribozimele/viroizii compuși numai din ARN au proprietăți asemănătoare virusurilor, se replică, suferă mutații, evoluează, se pot apăra, provoacă boli (!) - deci ar putea fi incluși în clasificarea virușilor.

virosferă: Lumea virușilor, prezentată pe un poster și enumerată de Comitetul internațional pentru taxonomia virușilor.

OMS: Organizația Mondială a Sănătății din Geneva, Elveția, proclamă pandemiile și programele de urgență.

zoonoză, zoonoze (pi): Virusuri transmise de la speciile animale la om, cea mai frecventă sursă de virusuri care afectează omul, adesea provoacă boli la om, dar nu și la animalele gazdă naturale, coevoluția poate aboli proprietățile periculoase. Transmisiile zoonotice au fost HIV, gripa, virusul febrei West Nile, Ebola, coronavirusul SARS etc. Unele dintre aceste virusuri se pot răspândi de la om la om, ceea ce crește riscul de infecție.

TRADUCERE REALIZATĂ CU:

DeepL Translator + Neural Writer